

**Kein Einfluss von Diclofenac auf die Kreatinin-, Inulin- und PAH-Clearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler und eingeschränkter Nierenfunktion**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

**Vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Ralf Michael Eggers

geboren am 27.07.1974 in Rudolstadt

## Verzeichnis der Abkürzungen

Abb.	Abbildung
ADP	Adenosin-5'-Diphosphat
ASS	Acetylsalizylsäure
ATP	Adenosin-5'-Triphosphat
AUC	area under the curve
COX	Zyklooxygenase
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GOD	Glukoseoxidase
m. b. H.	mit beschränkter Haftung
NADP	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (oxidierte Form)
NADPH	Nicotinamidadenindinucleotidphosphat (reduzierte Form)
NSAR	nichtsteroidale Antirheumatika
HK	Hexokinase
PAH-Clearance	Paraaminohippuratclearance
PGI	Phosphoglukoseisomerase
RPF	renaler Plasmafluss
Tab.	Tabelle
TRA-Puffer	Triethanolamin-Puffer
vs.	versus

## Inhaltsverzeichnis

1.	Zusammenfassung	5
2.	Einleitung	7
2.1.	NSAR: Einteilung und Wirkungsmechanismus	10
2.1.1.	Diclofenac	13
3.	Zielstellung	16
4.	Material und Methoden	17
4.1.	Auswahl der Patienten	17
4.2.	Studiendesign	18
4.3.	Studienmedikation	19
4.3.1.	Diclofenac-Phase	19
4.3.2.	Placebo-Phase	19
4.4.	Studienablauf	20
4.4.1.	Probenhandling	20
4.5.	Untersuchungsparameter	21
4.6.	Analytik	22
4.6.1.	Analyse der Inulinkonzentration im Serum	22
4.6.2.	Analyse der Paraaminohippuratkonzentration im Serum	26
4.7.	Clearanceberechnung	28
4.7.1.	Inulinclearance	28
4.7.2.	PAH-Clearance	29
4.7.3.	Kreatininclearance	30
4.8.	Statistik	31
5.	Ergebnisse	32
5.1.	Deskriptive Statistik	32
5.2.	Kreatininclearance	34
5.2.1.	Vergleich von Verum- und Placebophase in Gesamtgruppe	34
5.2.2.	Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion	35
5.2.3.	Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion	36
5.2.4.	Vergleich der Patientengruppen	37
5.3.	Inulinclearance	38
5.3.1.	Vergleich von Verum- und Placebophase in Gesamtgruppe	38
5.3.2.	Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion	39

5.3.3. Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion	40
5.3.4. Vergleich der Patientengruppen	41
5.4. PAH-Clearance	42
5.4.1. Vergleich von Verum- und Placebophase in Gesamtgruppe	42
5.4.2. Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion	43
5.4.3. Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion	44
5.4.4. Vergleich der Patientengruppen	45
6. Diskussion und Schlussfolgerungen	46
7. Literaturverzeichnis	55
8. Anhang	70

## 1. Zusammenfassung

Ziel dieser Studie ist die Untersuchung des Einflusses von Diclofenac auf die Inulin-, PAH- und Kreatininclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler (Kreatininclearance  $> 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ) oder eingeschränkter Nierenfunktion (Kreatininclearance  $30\text{--}79 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ) während einer kurzzeitigen Therapie in einer mittleren therapeutischen Dosierung.

32 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 sind in die Untersuchungen einbezogen, 16 mit normaler und 16 mit eingeschränkter Nierenfunktion.

Die Einteilung der Patienten in die Untersuchungsgruppe mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion erfolgt durch Berechnung der Kreatininclearance aus den Serumkreatininwerten nach der Methode von Cockcroft und Gault.

Die Studie wird als randomisierte, einfach blinde, Placebo-kontrollierte, zwei-Perioden cross-over Studie durchgeführt, in der die Patienten 140 mg Diclofenac-Colestyramin oder Placebo zweimal täglich am Tag 1 und 2 und einmal am Tag 3 mit einer Auswaschphase von mindestens 7 Tagen zwischen beiden Studienperioden erhalten.

Entsprechend dem Randomisierungsplan nehmen die Patienten an den Untersuchungstagen 1 und 2 jeweils morgens und abends eine Kapsel der Studienmedikation ein. Am Untersuchungstag 3, dem Hauptuntersuchungstag, nehmen die Patienten morgens 1 Kapsel ein. Danach erfolgen die Clearanceuntersuchungen.

Die Inulin- und Kreatininclearance werden als Marker für die glomeruläre Filtrationsrate und die PAH-Clearance wird als Marker für den renalen Plasmafluss bestimmt.

Die Berechnung der Inulin- und PAH-Clearance erfolgt mittels der Bolusmethode am Tag 3. Die Bestimmung der Kreatininclearance aus dem 24-Stunden-Sammelurin erfolgt im Routinelabor des Klinikums.

Diclofenac hat weder bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler Nierenfunktion noch bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und eingeschränkter Nierenfunktion einen

Einfluss auf die Inulin-, PAH- oder Kreatininclearance. Der Vergleich der Messwertdifferenzen zwischen Verum- und Placebophase zeigt ebenfalls keinen Unterschied zwischen den Untersuchungsgruppen.

Damit wird gezeigt, dass die kurzzeitige Anwendung von Diclofenac-Colestyramin in einer mittleren therapeutischen Dosierung über 3 Tage keinen Einfluss auf die glomeruläre Filtrationsrate (Inulin- und Kreatininclearance) und den renalen Plasmafluss (PAH-Clearance) bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion hat.

## 2. Einleitung

Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR) werden aufgrund ihrer analgetischen, antiphlogistischen und antipyretischen Wirkungen häufig bei leichten bis mittelstarken Schmerzen, insbesondere bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises eingesetzt. Jeder fünfte US-Bürger gibt an, wegen verschiedenster Beschwerden NSAR auch ohne ärztliche Kontrolle einzunehmen (Whelton et al., 1990). Weltweit stehen NSAR in den Medikamentenverordnungen an erster Stelle. Allein in Deutschland sind im Jahre 2000 ca. 87,5 Millionen Verordnungen registriert worden (Schwabe und Paffrath, 2001). Etwa 60% der Antirheumatikaverordnungen entfallen auf das NSAR Diclofenac (Schwabe und Paffrath, 2001).

Nur bei etwa 1-5% der Patienten treten nach Einnahme von NSAR schwerwiegende Nebenwirkungen auf (Whelton and Hamilton, 1991). Aufgrund der hohen Arzneimittelanwendung versterben in den USA jedoch jährlich etwa 16000 Menschen durch NSAR-induzierte Nebenwirkungen (Singh, 1998). NSAR sind bei Patienten mit chronischer Polyarthritits für zwei Drittel aller Medikamenten-induzierten Todesfälle verantwortlich (Myllykangas-Luosujärvi et al., 1995).

Zu den häufigsten Nebenwirkungen zählen gastroduodenale Erosions- und Ulcerationsblutungen sowie Nierenfunktionsstörungen. Etwa 3% aller akuten und 30% aller chronischen Nierenversagen werden im Zusammenhang mit einer NSAR-Einnahme beobachtet (Stichtenothe and Frölich, 1998).

Bereits 1953 wird der Zusammenhang zwischen hohen Einnahmen phenacetinhaltiger Analgetika und der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz beschrieben (Spühler und Zollinger, 1953). Auch nach der Entfernung phenacetinhaltiger Analgetika vom Markt gehört die Analgetikanephropathie neben anderen Glomerulonephritiden und der diabetischen Nephropathie zu den häufigsten Ursachen einer Dialysebehandlung (Schwarz et al., 1999). Beispielsweise führt die langjährige NSAR-Therapie bei 10-20% der Polyarthritispatienten zur Nierenfunktionseinschränkung und in 5-20% dieser Fälle zur terminalen Niereninsuffizienz (Kuhlmann und Walb, 1994). Als pathophysiologischer Mechanismus wird die medikamentös-induzierte minimal-change Glomerulonephritis sowie die interstitielle Nephritis nachgewiesen (Abraham and Keane, 1984).

Mit der durch Vane erstmalig beschriebenen Prostaglandinsynthesehemmung durch NSAR (Vane, 1971) wird die akute Reduktion des renalen Plasmaflusses (RPF) und der glomerulären Filtrationsrate (GFR) in Zusammenhang gebracht (Vriesendorp et al., 1986; Dunn, 1987; Kinn et al., 1989).

Die Beeinflussung der Nierenfunktion durch NSAR wird bei gesunden Personen als niedrig eingeschätzt (Dunn, 1987; Griffin et al., 2000). Demgegenüber nimmt das Risiko, unter der NSAR-Therapie bei vorbestehender Nierenfunktionseinschränkung eine Nierenfunktionsstörung zu entwickeln, deutlich zu (Griffin et al., 2000).

Retrospektiv werden als Risikofaktoren für das gesteigerte Auftreten von Nierenfunktionsstörungen neben dem höheren Lebensalter sowie einer bereits vorbestehenden Nierenfunktionseinschränkung insbesondere die Diabetes mellitus-Erkrankung eruiert (Schlondorff, 1993; Griffin et al., 2000).

Die Anzahl Diabetes mellitus Typ 2-Erkrankter beträgt ca. 4 Millionen in Deutschland, dies entspricht einer gesicherten Prävalenz von ca. 4% (Hauner, 1998). Bei einer hohen Dunkelziffer bisher nicht diagnostizierter Erkrankter wird eine Prävalenz von ca. 8% angenommen (Palitzsch et al., 1999). Etwa 30-40% dieser Patienten entwickeln eine Nierenfunktionseinschränkung (Cooper et al., 1998), wobei das Risiko unabhängig von Diabetes mellitus Typ 1 oder Typ 2 ist (Hasslacher et al., 1989).

Etwa 30 Prozent der Patienten mit Diabetes mellitus und fortgeschrittener Nierenfunktionseinschränkung müssen im Krankheitsverlauf in ein Dialyseprogramm eingeschlossen werden, dies entspricht etwa 14.000 Dialysen pro Jahr (Standl, 1998).

Durch die verbesserte antihypertensive Therapie, die präventionelle Therapie der koronaren Herzerkrankung, der großflächigen Durchführung umfangreicher Blutzucker-Screeninguntersuchungen zur Evaluierung möglicher Risikopatienten, der Durchführung von Schulungsprogrammen, der regelmäßigen Arztkonsultation von Diabetespatienten zur frühzeitigen Erfassung möglicher Diabetes-assoziierten Komplikationen, konnte die 5-Jahres-Mortalitätsrate bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 von 65% im Jahre 1975 auf 25% im Jahre 1985 gesenkt werden (Ritz et al., 1999). Es ist davon auszugehen, dass die Anzahl der Patienten mit Diabetes mellitus Typ-2 und Nierenfunktionseinschränkung aufgrund der deutlich gesenkten Mortalitätsrate kontinuierlich zunimmt.



Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz als Folge der diabetischen Nephropathie stellen heute bereits die größte Patientengruppe mit dialysepflichtigen Nierenerkrankungen dar. In den USA steigt der Anteil der diabetischen Nephropathie von 27% im Jahre 1982 auf 36% im Jahre 1992 an. Dies ist ein wesentlich dramatischer Anstieg gemessen an den europäischen Verhältnissen, die im gleichen Zeitraum eine Steigerung von 11% auf 17% ausweisen. Vergleicht man jedoch die Inzidenz der dialysepflichtigen Nierenerkrankungen, dann sind die europäischen Verhältnisse mit einem Anteil der diabetischen Nephropathie von 36,3% mit dem etwa 40%-messenden Anteil in den USA durchaus vergleichbar (Ritz et al., 1999).

Die progrediente Nierenfunktionseinschränkung bestimmt die Lebenserwartung und Lebensqualität der betroffenen Patienten besonders. Die mittlere 5-Jahres-Überlebensrate der Patienten mit dialysepflichtiger diabetischer Nephropathie liegt unter 10%. Patienten mit diabetischer Nephropathie und akuter Verschlechterung der Nierenfunktion haben unter Dialysebedingungen eine wesentlich schlechtere Prognose hinsichtlich der Stabilisierung oder Verbesserung der Nierenfunktion als Patienten mit Glomerulonephritis oder Medikamenten-induzierten Nierenfunktionsstörungen (Pichette et al., 1993). Dies unterstreicht die Notwendigkeit, die Progression der Diabetes-induzierten Nierenschädigung aufzuhalten. Insbesondere sollte die iatrogen bedingte Verschlechterung der Nierenfunktion durch die individuelle Medikamentenverordnung Berücksichtigung finden.

Die Wirkung von Diclofenac in einer kurzzeitigen und mittleren Dosierung auf die Nierenfunktion von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion ist noch nicht untersucht worden. Dies ist der Anlass zur Durchführung einer kontrollierten klinischen Studie, die sich mit der Beeinflussung der Kreatinin-, Inulin- und PAH-Clearance durch Diclofenac bei dieser Patientengruppe befasst.

Neben der Kreatin clearance existiert mit der Inulin clearance eine einfach klinisch durchführbare Meßmethode zur genauen Beurteilung der glomerulären Filtrationsrate. Durch die simultane Bestimmung der PAH-Clearance ist die gleichzeitige Messung des renalen Plasmaflusses möglich.

Mit der Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate, gemessen durch die Inulin clearance sowie der Bestimmung des renalen Plasmaflusses, gemessen durch die PAH-Clearance, stehen sehr genaue Methoden zur Einschätzung der exkretorischen Nierenfunktion zur Verfügung.

## 2.1. NSAR: Einteilung und Wirkungsmechanismus

Die Zyklusloxygenaseenzyme werden durch die einzelnen Wirkstoffe der Antirheumatika-gruppe in unterschiedlicher Weise gehemmt (Vane and Botting, 1995; Brideau et al., 1996). Man unterscheidet reversible (Indomethacin, Diclofenac) von nicht reversiblen (ASS) Zyklusloxygenasehemmern (Brooks and Day, 1991). Nach der spezifischen Hemmung einzelner Zyklusloxygenaseenzyme werden selektive COX-1-Hemmer (ASS) von nicht selektiven (Diclofenac, Metamizol, Ibuprofen) und selektiven COX-2-Hemmern (Celecoxib) unterschieden (Stichtenoth, 1997).

Die verschiedenen Zyklusloxygenaseenzyme synthetisieren lokal wirksame Prostaglandine und Thromboxan (Vane and Botting, 1995, McGiff and Quilley, 1999) (Abb. 1).

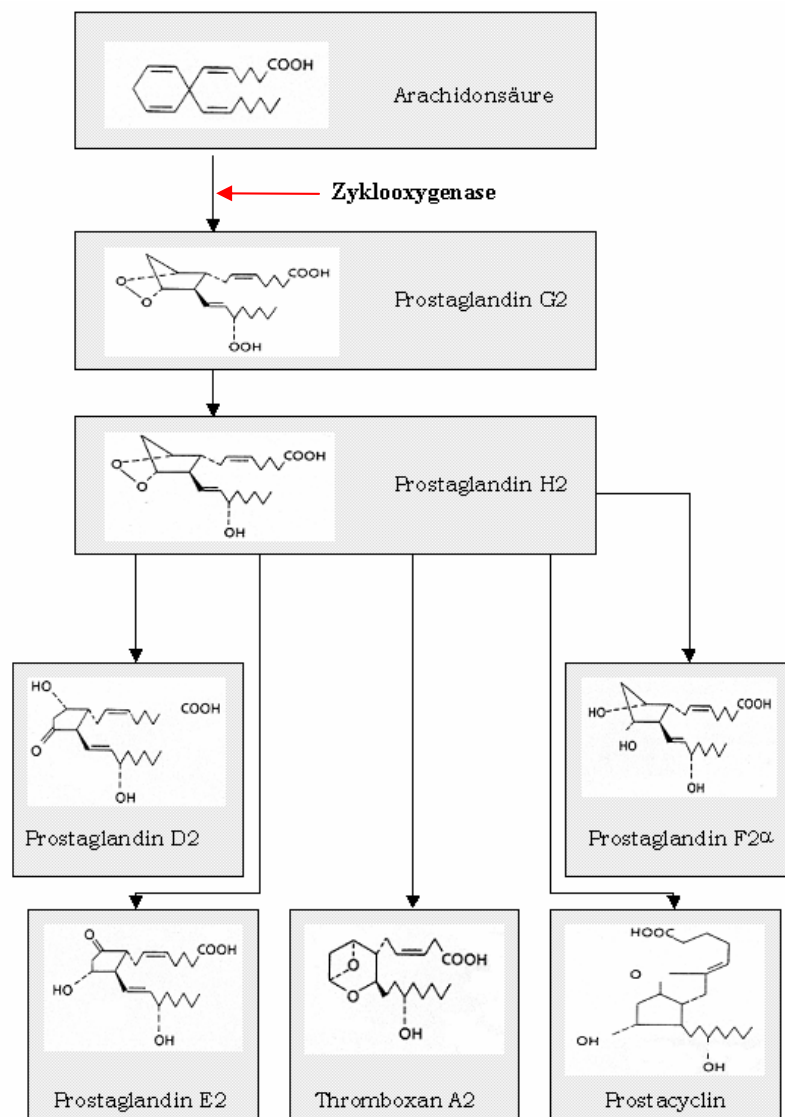


Abb. 1: schematische Darstellung der Zyklusloxygenasesyntheseprodukte (modifiziert nach McGiff and Quilley, 1999)

Prostaglandine sind wie Thromboxan Abkömmlinge mehrfach ungesättigter Fettsäuren. Sie werden in den meisten Geweben produziert und modulieren autokrin und parakrin eine Vielzahl hormoneller und zellulärer Stimuli. Sie besitzen eine kurze Halbwertszeit, eine Speicherung wird nicht nachgewiesen (Bonventre and Nemenhoff, 1991).

Die pathophysiologische Bedeutung der Prostaglandine liegt in der Steigerung der Entzündungsaktivität durch Erhöhung der Gefäßpermeabilität sowie der Verstärkung der Wirkung anderer Entzündungsmediatoren (Kinine, Serotonin, Histamin). Durch die direkte Sensibilisierung von im Entzündungsgebiet liegenden Nozizeptoren (Heppelmann et al., 1986) sowie der Beeinflussung spinaler und supraspinaler Verschaltungsvorgänge sind Prostaglandine unmittelbar an der Schmerzentstehung beteiligt (Brune, 1994). Nichtsteroidale Antirheumatika unterbrechen die Schmerzentstehung und Schmerzfortleitung durch Hemmung der Prostaglandinsynthese.

Renale Prostaglandine modulieren den Tonus der afferenten und efferenten glomerulären Arteriolen sowie des Mesangiums (Breyer et al., 1996; Komhoff et al. 1997; Morath et al., 1999; Purdy and Arendhorst, 2000; Tang et al., 2000). Prostazyklin ist das Hauptsyntheseprodukt im Kortex renalis, Prostaglandin E<sub>2</sub> wird vorwiegend in der Medulla renalis synthetisiert (Whorton et al., 1978). Prostazyklin ist an der Stimulation der Reninsynthese, der Aldosteronsekretion, der Steigerung der Kaliumsekretion sowie unmittelbar an der Regulation der GFR und des RPF durch Beeinflussung des Tonus des glomerulären Vas afferens und Vas efferens beteiligt (Brater, 1999).

Die Entdeckung verschiedener Zyklooxygenaseenzyme trägt zur weiteren Aufklärung der NSAR-Wirkung auf die Nierenfunktion bei. So ist bereits seit 1976 die Struktur des COX-1-Isoenzyms bekannt (Hemler et al., 1976). Eine zweite Variante des Zyklooxygenaseenzyms, das COX-2-Isoenzym, wird 1991 entdeckt und zeigt etwa 61% Homologie der COX-1-Gensequenz (Xie et al., 1991; Appleby et al., 1994). Neuere Untersuchungen diskutieren das Vorhandensein eines weiteren COX-3-Isoenzyms (Botting, 2000).

COX-2-selektive Zyklooxygenasehemmer sind unter der Annahme entwickelt worden, dass COX-2-Enzym sei lediglich für Entzündungsreaktionen essentiell. Jedoch hat sich damit der Wunsch nach nebenwirkungsfreien Zyklooxygenasehemmern nicht verwirklichen lassen. So kann gezeigt werden, dass beide Zyklooxygenaseenzyme, COX-1 und COX-2, sowohl an der Regulation von Entzündungsreaktion und Schmerzverarbeitung als auch an der Aufrechter-

haltung verschiedenster Organfunktionen beteiligt sind (O'Neill and Hutchinson, 1993; Freston, 1999). Abbildung 1 illustriert sowohl die Koexistenz der Zyklooxygenaseisoenzyme in verschiedenen Organsystemen als auch deren Beteiligung an inflammatorischen Prozessen.

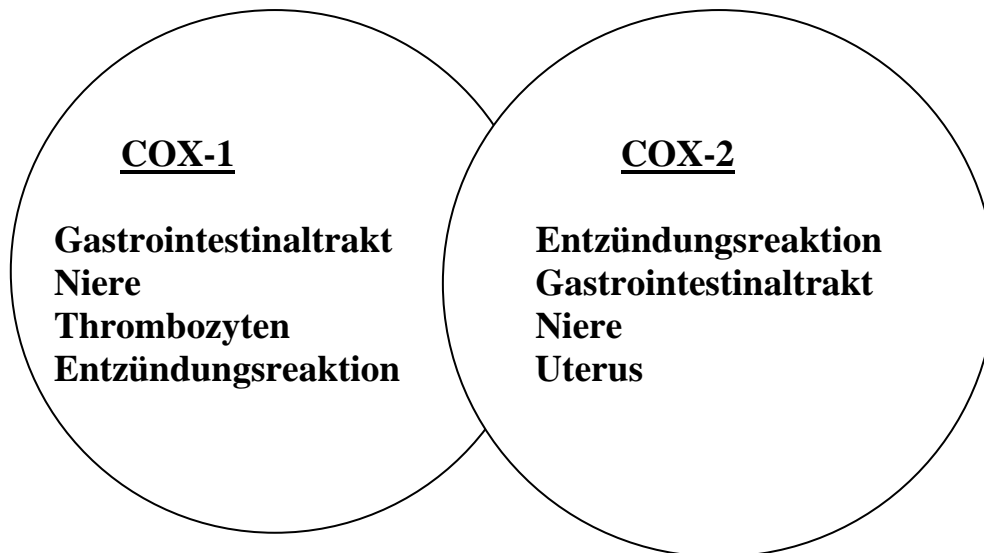


Abb. 2: Koexistente Expression der Zyklooxygenaseisoenzyme in ausgewählten Organen sowie Beteiligung beider Enzyme an Entzündungsreaktionen (modifiziert nach Freston, 1999)

Die frühere strenge Einteilung in konstitutive und induzierbare Zyklooxygenase ist aufgrund der neuen Datenlage verlassen worden.

In animalischen (Tegeder et al., 2000) als auch humanen (Komhoff et al., 1997) Nieren wird eine koexistente Synthese beider Enzyme nachgewiesen. COX-1 ist vorwiegend an der Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes beteiligt und wird präferentiell durch tubuläre Zellen synthetisiert (Harris et al., 1994; Fernandez-Llama et al., 1999). An der Regulation des tubuloglomerulären Feedbacks ist die COX-1 wahrscheinlich bedeutungslos (Cheng et al., 1999). Demgegenüber wird in glomerulären Endothelzellen, glatten Muskelzellen der glomerulären Arteriolen, Arterien und Venen sowie Podozyten ausschließlich das COX-2-Isoenzym synthetisiert, wobei die tierexperimentell hohe COX-2-Synthese in Macula densa Zellen in gesunden humanen Nieren nicht nachgewiesen wird (Komhoff et al., 1997).

### 2.1.1. Diclofenac

Diclofenac ist als lipophiles Phenyllessigsäurederivat ein klassisches nichtsteroidales Antirheumatikum und seit 1974 im Handel (Diclofenac-Colestyramin-Fachinformation). Eine neue galenische Darreichungsform ist die Kopplung an den Anionenaustauscher Colestyramin (Abb. 3).

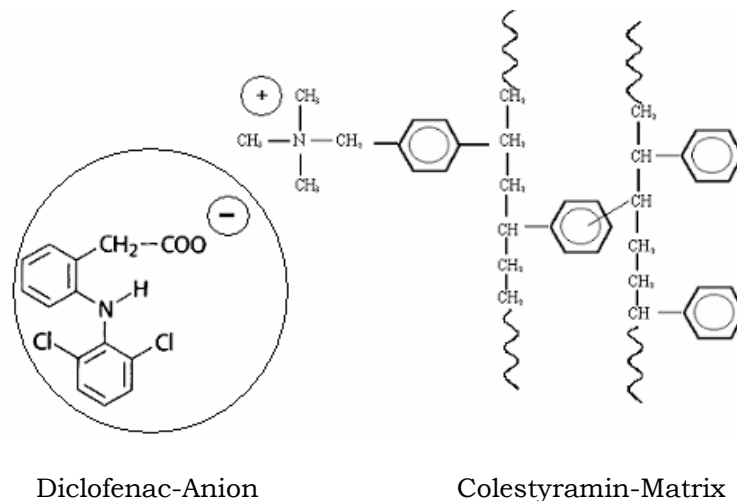


Abb. 3: Diclofenac-Colestyramin, chemische Struktur

#### *Pharmakodynamik*

Die analgetische, antiphlogistische und antiinflammatorische Wirkung wird durch die Hemmung der Zyklooxygenase erreicht (Ku et al., 1986). Sowohl die COX-1 als auch die COX-2 werden schon in geringen Konzentrationen gehemmt (Brideau et al., 1996). Vergleichende experimentelle Studien hinsichtlich der COX-Hemmkonzentrationen zeigen tendenzielle COX-2-Spezifität für Diclofenac an (Cryer and Feldmann, 1998; FitzGerald and Patrono, 2001).

#### *Pharmakokinetik*

Die salzartige Kopplung von Diclofenac an das Ionenaustauscherharz Colestyramin ist gegenüber dem Natriumsalz aufgrund der im sauren Milieu geringgradigeren Freisetzungsrate mit weniger Magenschleimhautirritationen verbunden. Zusätzlich wird durch die geringere Partikelgröße eine schnelle Magentransitzeit erreicht. Im Dünndarm erfolgt die Freisetzung von Diclofenac durch Verdrängung des Diclofenac-Anions vom Colestyramin-Kation mittels

Ionentausch durch verschiedene Anionen, insbesondere durch die hohe intestinale Chlorid-Konzentration. Die etwa 70%ige Freisetzung im Dünndarm innerhalb von 2 Stunden führt zu einem schnellen Absorptionsbeginn. Die restliche Freisetzung erfolgt verzögert und führt somit zu einem geringgradigen Retardeffekt. Gegenüber anderen Retardierungen werden individuell konstante Plasmaspiegelkurven als Ausdruck eines konstanten Resorptionsverhaltens beobachtet (Kurowski et al., 1994; Brune, 1995).

Diclofenac unterliegt einem hohen first pass-Effekt, etwa 60-70% der Resorptionsrate wird nach Hydroxylierung und Glucuronidierung unmittelbar über die Nieren ausgeschieden (Tabata et al., 1995). Für zwei der Metaboliten werden pharmakologisch relevante Wirkungen beschrieben. Die Plasmaeiweißbindung ist mit 99,7% hoch.

Aufgrund der intestinalen Verluste und des first pass-Effektes wird eine Dosierung von 75 mg empfohlen, dies entspricht 140 mg Diclofenac-Colestyramin. Die maximal zweimalige tägliche Diclofenac-Colestyramin-Gabe führt zu ausreichend hohen therapeutischen Diclofenac-Spiegeln im Entzündungsgebiet (Brune, 1995).

Da die Elimination von Diclofenac und dessen Metaboliten zu 60% renal erfolgt, ist bei eingeschränkter Nierenfunktion nicht mit einer Kumulation der aktiven Wirksubstanz zu rechnen (Brune, 1994; Diclofenac-Colestyramin-Fachinformation).

### *Indikationen*

Indikationen für eine Diclofenactherapie sind akute Gelenkentzündung einschließlich Gichtanfall, chronische Gelenkentzündung, rheumatoide Arthritis, Spondylitis ankylosans, Reizzustände bei degenerativen Gelenkerkrankungen, Weichteilrheumatismus, schmerzhafte Schwellungen oder Entzündungen nach Verletzungen oder Operationen, schmerzhafte Regelblutungen, akute und subakute Adnexitis, Tumorschmerzen, insbesondere bei Skelettbefall oder entzündlichem peritumoralem Ödem (Diclofenac-Colestyramin-Fachinformation).

Diclofenac-Colestyramin wird besonders für den periodisch auftretenden Schmerz, z.B. Arthroseschmerz, empfohlen (Brune, 1995).

### *Kontraindikationen*

Diclofenac-Colestyramin darf nicht angewendet werden bei bekannter Überempfindlichkeit gegen den Wirkstoff Diclofenac, bei Patienten, bei denen Acetylsalizylsäure oder andere Medikamente mit prostaglandinhemmender Wirkung Asthmaanfälle, Hautreaktionen oder

Rhinitis ausgelöst haben, bei bestehenden Darm- oder Magengeschwüren, ungeklärten Blutbildungsstörungen, bei Schwangeren sowie bei Kindern und Jugendlichen.

### *Nebenwirkungen*

Zu den häufigen Nebenwirkungen gehören Magen-Darm-Beschwerden wie Übelkeit, Erbrechen, Durchfall sowie geringfügige Magen-Darm-Blutverluste. Vereinzelt treten akute Niereninsuffizienz, Nierenfunktionsstörungen wie Proteinurie und Hämaturie, Nierenschädigungen wie interstitielle Nephritis, nephrotisches Syndrom und Papillennekrosen auf (Diclofenac-Colestyramin-Fachinformation, Rossi et al., 1985; Kinn et al., 1989; Kulling et al., 1995; Revai and Harnos, 1999; Shohaib, 2000).

### 3. Zielstellung

Unter der Berücksichtigung, dass NSAR sehr häufig angewendet werden, die Einnahme nur zum Teil unter ärztlicher Kontrolle erfolgt, das Risiko der Entwicklung einer Nierenfunktionsstörung unter der NSAR-Therapie erhöht ist, die Diabeteserkrankung eine hohe Prävalenz aufweist und die Diabeteserkrankung zur Nierenfunktionseinschränkungen führen kann, ist die Wirkung der verschiedenen NSAR auf die Nierenfunktion von Patienten mit Diabetes mellitus noch unzureichend untersucht. Für das nicht-selektive NSAR Diclofenac liegen noch keine Daten zur Beeinflussung der Nierenfunktion bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion vor.

Ziel der Studie ist die Untersuchung des Einflusses von Diclofenac in mittlerer therapeutischer Dosierung über einen kurzfristigen Einnahmezeitraum von 3 Tagen auf die glomeruläre Filtrationsrate sowie den renalen Plasmafluss bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler Nierenfunktion und bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit eingeschränkter Nierenfunktion im Vergleich zu Placebo.

Marker für die glomeruläre Filtrationsrate sind die Kreatinin- und Inulinclearance. Marker für den renalen Plasmafluss ist die PAH-Clearance.

Die Kreatininclearance wird nach der Methode von Cockcroft und Gault aus den Serumkreatininwerten berechnet. Patienten mit einer Kreatininclearance  $> 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  werden in die Gruppe mit normaler Nierenfunktion und Patienten mit einer Kreatininclearance von  $30\text{-}79 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  in die Gruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion eingeteilt.

Die Errechnung der Inulin- und PAH-Clearance erfolgt aus dem Verlauf der Serumkonzentrationen nach parenteraler Bolusgabe der Testsubstanzen.



## **4. Material und Methoden**

### **4.1. Auswahl der Patienten**

Der klinisch-praktische Teil wird auf der Station für Stoffwechselerkrankungen der Klinik für Innere Medizin II in Jena durchgeführt.

16 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und normaler Nierenfunktion (Gruppe I) bzw. 16 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und eingeschränkter Nierenfunktion (Gruppe II) werden aus dem hier bestehenden Patientenpool in die Studie eingeschlossen.

Einschlusskriterien:

- männliche und weibliche Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2
- Alter von 40 bis 75 Jahre
- antidiabetische Therapie durch orale Antidiabetika oder Insulin
- antihypertensive Therapie mit Nitraten, Calciumantagonisten, Diuretika, ACE-Hemmern, AT-1-Blockern
- medikamentöse Therapie der diabetischen Dyslipidämie

Ausschlusskriterien:

- Coma diabeticum oder hypoglykämischer Schock in der Anamnese
- maligner Hypertonus
- schwere koronare Herzkrankheit
- Herzinsuffizienz NYHA III-IV
- Myokardinfarkt innerhalb 6 Monate vor Studienbeginn
- akutes Nierenversagen
- akute renale Verschlechterung bei bekannter chronischer Niereninsuffizienz
- Nierenarterienstenose
- Einnierigkeit
- florides Ulkus ventrikuli oder Ulkus duodeni
- bekannte allergische Reaktion auf NSAR oder Kontrastmittel
- Tumorerkrankungen

- bekannte Hyperthyreose
- Raucher (>10 Zigaretten/Tag)
- Bluttransfusion, anamnestisch bekannter Blutverlust von mehr als 500 ml
- Patienten mit akuten Erkrankungen
- Schwangerschaft
- Teilnahme an anderen Studien während der letzten 30 Tage

Nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien erfolgt die Gruppenzuteilung in die Gruppe mit normaler Nierenfunktion (Gruppe I: Kreatininclearance  $\geq 80$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) oder in die Gruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion (Gruppe II: Kreatininclearance 30-79 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) durch nachstehende Formel (Methode nach Cockcroft und Gault, 1976):

$$\text{Kreatininclearance [ml/min/1,73 m}^2\text{]} = \frac{(140 - \text{Alter [Jahre]}) \times \text{Körpergewicht [kg]}}{\text{Serumkreatininkonzentration [mg/dl]} \times F}$$

$$\begin{aligned} F (\text{Männer}) &= 72 \\ F (\text{Frauen}) &= 85 \end{aligned}$$

In beiden Gruppen wird eine Gleichverteilung des Alters, des Geschlechts sowie der anti-diabetischen und antihypertensiven Therapie angestrebt.

Die schriftliche Einverständniserklärung der Patienten sowie ein positives Votum der Ethikkommission der Universitätsklinik Jena liegen vor Beginn der Untersuchungen vor.

## 4.2. Studiendesign

Die Studie wird als randomisierte, placebokontrollierte, einfach-blinde cross-over-Studie durchgeführt. Zwischen Verum- und Placebophase liegen mindestens 7 Tage Auswaschzeit. Eine Untersuchungsphase besteht aus 3 Tagen.

### 4.3. Studienmedikation

In der Verumphase nehmen die Patienten Diclofenac-Colestyramin-Kapseln in einer Dosierung von 140 mg/Kapsel ein, dies entspricht einer Dosis von 75 mg Diclofenac-Natrium.

Die Beschreibung der detaillierten Studiendosis erfolgt in 4.3.1 und 4.3.2.

#### 4.3.1. Verum-Phase

INN:	Diclofenac-Colestyramin
Handelsname:	Voltaren-Resinat®
Arzneiform:	Kapsel
Einzeldosis:	140 mg
Applikation:	2x140 mg an den Tagen 1 und 2, 1x140 mg am Tag 3
Hersteller:	Novartis Deutschland GmbH, Nürnberg

#### 4.3.2. Placebo-Phase

Arzneiform:	Kapseln
Einzeldosis:	1 Kapsel
Applikation:	2x1 Kapsel an den Tagen 1 und 2, 1x1 Kapsel am Tag 3
Hersteller:	Novartis Deutschland GmbH, Nürnberg

#### **4.4. Studienablauf**

Die Patienten nehmen an den Untersuchungstagen 1 und 2 jeweils um 8.30 Uhr und 19.30 Uhr eine Kapsel der Studienmedikation ein.

Vom 2. auf den 3. Untersuchungstag wird über 24 Stunden Urin zur Bestimmung der Kreatininclearance gesammelt.

Am 3. Tag erfolgt die invasive Messung der Inulin- und PAH-Clearance in einem Untersuchungsraum der Klinik für Innere Medizin II.

Die Patienten liegen entspannt auf einer Untersuchungsfläche. Nach Platzierung einer Dauerflexüle in einer Kubitalvene werden den Patienten Proben zur Routineblutbestimmung sowie zur Erfassung der Serumleerwerte für die PAH- und Inulinbestimmung entnommen.

Um eine ausreichende Hydrierung sicher zu stellen, werden die Patienten angehalten, mindestens 200 ml Mineralwasser pro Stunde zu trinken.

Um 8.30 Uhr erfolgt die Einnahme der Studienmedikation.

In die der Dauerflexüle kontralateral gelegenen Kubitalvene wird die standardisierte Bolusapplikation von Inulin (5.000 mg Inutest®-Lösung, Fa. Laevosan m. b. H., Linz) und PAH (1.000 mg Amminohippurat-Sodium®-Lösung, Merck & Co., West Point, USA) vorgenommen.

Nach festgelegtem Schema 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 210, 240 und 300 Minuten nach der Bolusapplikation erfolgen jeweils Blutentnahmen in Serummonovetten.

##### **4.4.1. Probenhandling**

Die Serummonovetten zur Analyse der Inulin- und PAH-Konzentrationen werden über 5 Minuten bei 5.000 U/min zentrifugiert. Das gewonnene Serum wird portioniert und bei –20°C eingefroren. Die Proben werden gesammelt und nachfolgend im Institut für Klinische Pharmakologie analysiert.

Die Patientenproben zur Analyse der Kreatininkonzentration werden am Tag der Abnahme sofort in das Routinelabor des Instituts für Klinische Chemie verschickt.

#### **4.5. Untersuchungsparameter**

- Messung in den Blutproben:

Inulin und PAH werden zur Berechnung der Inulin- und PAH-Clearance bestimmt

- Messung im 24-Stunden Sammelurin:

Kreatinin wird im 24-Stunden Sammelurin zur Berechnung der Kreatininclearance bestimmt (Routinelabor).

- Messungen in der Vor- und Nachuntersuchung:

kleines Blutbild, Elektrolyte, Kreatinin (Blut, Urin), Harnstoff, Quick-Test, Protein (Blut, Urin), Bilirubin gesamt, Cholesterin, Triglyceride, ASAT, ALAT, gamma-GT, HbA1c, Glukose (Blut, Urin) (Routinelabor).

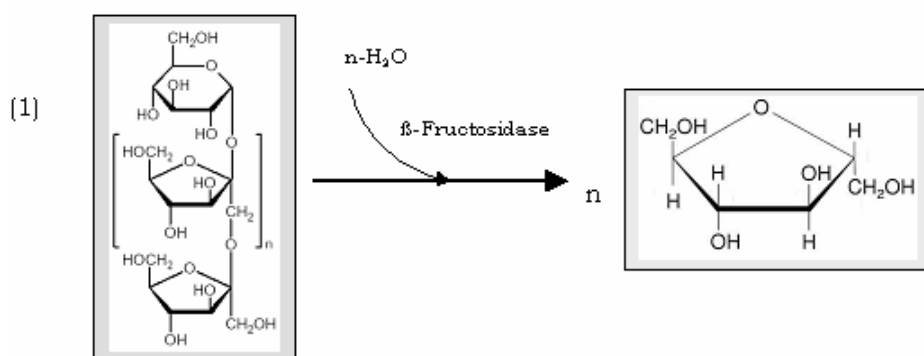
## 4.6. Analytik

### 4.6.1. Analyse der Inulinkonzentration im Serum

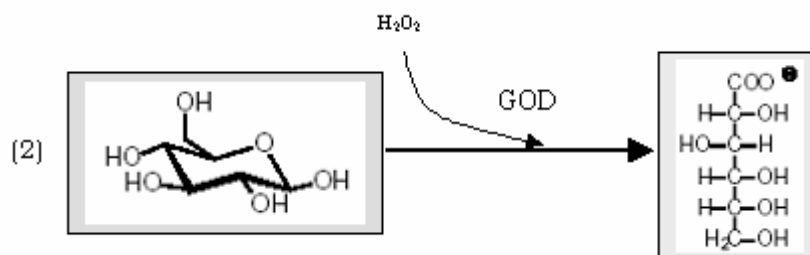
Die Analyse der Inulinkonzentration im Serum wird in Anlehnung der Methode nach Kühnle (Kühnle et al., 1992) modifiziert und im Institut für Klinische Pharmakologie etabliert (SOP 971113).

#### Prinzip der analytischen Methode

Das Probandenserum wird zur quantitativen Inulinbestimmung in einer enzymatischen Reaktion umgesetzt. Nach Inkubation des Serums spaltet das Enzym  $\beta$ -Fructosidase das Polyfructosan Inulin in seine Einzelbestandteile auf (1).



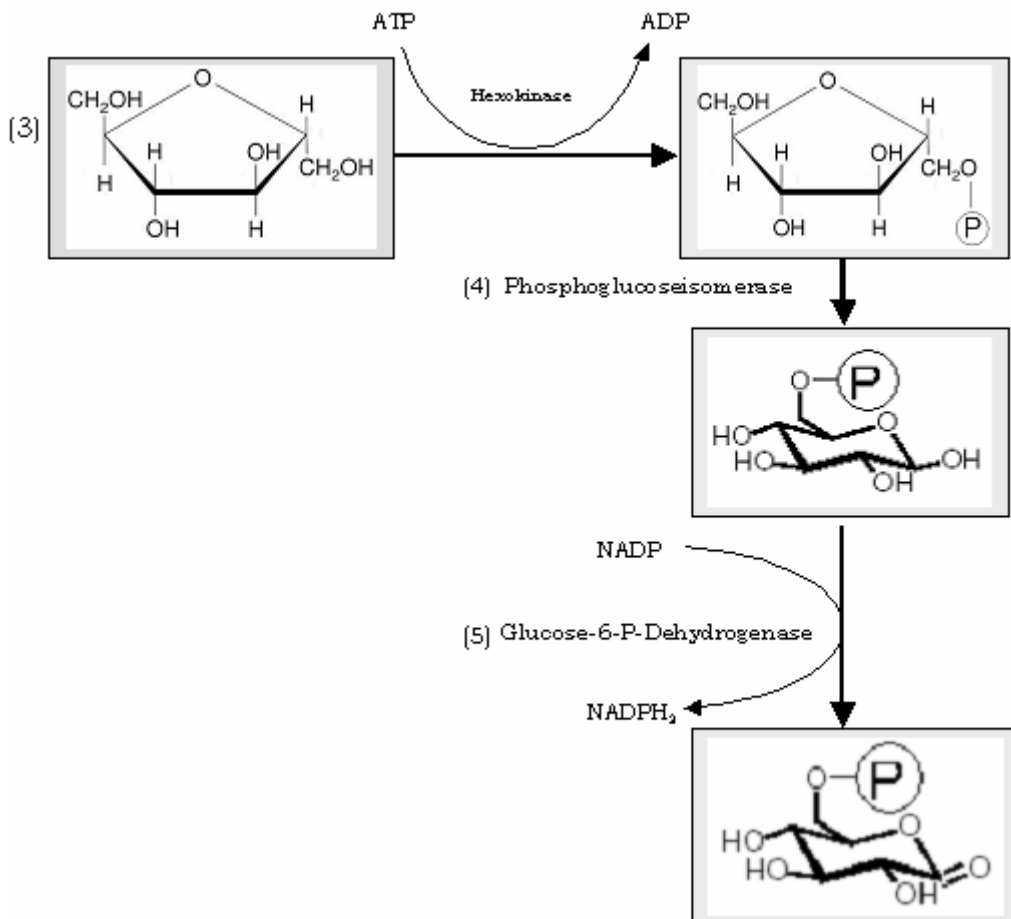
Gleichzeitig wird die im Serum in ständig wechselnder Konzentration enthaltene Glucose mit Wasserstoffperoxid und dem Enzym Glucoseoxidase (GOD) zu Gluconat oxidiert (2).



Da sowohl die Glucoseoxidation als auch die enzymatische Hydrolyse des Inulins bei identischem pH-Wert und im gleichen Puffergemisch durchzuführen sind, können beide Reaktionen simultan ablaufen.

In einem weiteren Schritt werden die entstandenen Fructosebausteine mit dem Enzym Hexokinase (HK) zu Fructose-6-phosphat phosphoryliert (3) und mit dem Enzym Phosphoglucoseisomerase (PGI) zu Glucose-6-phosphat isomerisiert (4). Anschließend erfolgt die Oxidation

von Glucose-6-phosphat zu 6-Phosphogluconolacton unter Reduktion von Nicotinamid-adenindinucleotidphosphat (NADP) durch das Enzym Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (5). Das entstehende NADPH ist der Konzentration an Glucose-6-phosphat proportional und lässt sich spektroskopisch bei einer Wellenlänge von 334 nm messen.



Die Validierung der Methode ergibt bei bekannten Inutestkonzentrationen eine Wiederfindungsrate von 99,98% bei einer intra-assay-Schwankung von 1,62% und einer inter-assay-Schwankung von 3,84%.

Der Extinktionsverlauf ist im Messbereich von 50 µg/ml bis 400 µg/ml linear.

## Reagenzien

Inutestlösung 1% (Fa. Laevosan m. b. H., Linz); Glucose-Oxidase aus *Aspergillus Niger*, Reinheitsgrad 1, lyophilisiert (Boehringer Mannheim GmbH);  $\beta$ -Fructosidase aus Hefe, lyophilisiert (Boehringer Mannheim GmbH); Wasserstoffperoxid 30% (Fluka Chemie AG, CH-Buchs); Zitronensäure (Chemapol, Prag); Natriumcitrat (Merck, Darmstadt); Testkombination zur Fructose-Fructosidase-Bestimmung (Boehringer Mannheim GmbH)

- Herstellung des Citratpuffers 0,2 M, pH 5,0:

4.200 mg Zitronensäure werden mit Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt, 5.800 mg Natriumcitrat werden mit Wasser gelöst und auf 100 ml aufgefüllt; durch Versetzen von 60 ml der Natriumcitrat-Lösung mit 25 ml der Zitronensäurelösung erhält man 0,2 M Citratpuffer. Die Kontrolle des pH-Wertes erfolgt durch Unitestpapier. Durch Titration mit NaOH oder HCl wird der erforderliche pH-Wert eingestellt.

- Herstellung der Reaktionslösungen 1 und 2:

Aus den Chemikalien der Testkombination für die Fructosebestimmung (Boehringer Mannheim GmbH) werden die Lösungen 1 und 2 hergestellt. Durch Versetzen des Inhalts der Flasche 1 (TRA-Puffer,  $\text{MgSO}_4$ , ADP, ATP) mit 80 ml Wasser erhält man die Lösung 1. Durch Mischen der Inhalte der Flaschen 2 und 3 (HK, Glucose-6-P-Dehydrogenase, PGI) im Verhältnis 1:1 erhält man die Lösung 2.

- Herstellung des Inkubationsmediums 1:

5 mg GOD (250 IU/mg) und 200 mg  $\beta$ -Fructosidase (300 IU/mg) werden in 10,0 ml Citratpuffer (0,2 M, pH 5,0) gelöst.

- Herstellung des Inkubationsmediums 2:

5,0 ml Citratpuffer (0,2 M, pH 5,0) werden mit 0,05 ml Wasserstoffperoxid (30%) versetzt.

- Herstellung der Inutestkalibrationslösungen:

Für die Erstellung der Kalibrierkurve werden wässrige Lösungen mit einer Inutestkonzentration von 50, 100, 200, 300 und 400  $\mu\text{g/ml}$  hergestellt.

- Durchführung der Inutestanalyse:

0,1 ml der Kalibrationslösung oder der Serumprobe werden mit 0,2 ml Inkubationsmedium 1 und 0,1 ml Inkubationsmedium 2 in Halbmikrogläser gründlich auf einem Vortex-Mixer gemischt und 60 min bei 37 °C im Wasserbad inkubiert. Zu jedem Inkubationsansatz werden 1,0 ml Lösung 1 pipettiert, gut gemischt und die Lösung in eine Halbmikroküvette überführt. Die Extinktion ( $E_1$ ) wird mit Hilfe eines Photometers (Spekol 11, Carl Zeiss Jena) bei einer Wellenlänge von 334 nm gemessen. Anschließend wird das Gemisch jedes Ansatzes wieder in die Reagenzgläser überführt. Nachfolgend werden 0,02 ml der unverdünnten Lösung 2 hinzu-



pipettiert. Nach 20 Minuten wird der Inhalt der jeweiligen Reaktionsgefäße erneut in die Küvetten gegeben und die Extinktion bei 334 nm bestimmt (E2).

Aus der Differenz von E2 und E1 wird die Extinktion der Fructose berechnet.

- Auswertung:

Die Extinktionswerte der Kalibrationslösungen werden mit Hilfe des Microsoft Excel-Programms<sup>1</sup> ausgewertet. Die graphische Darstellung erfolgt durch ein Streudiagramm. Die Konzentrationswerte werden mit dem SPSS-Statistikprogramm<sup>2</sup> gewichtet und die Kalibrationskurve errechnet. Die Gleichung der gewichteten Anstiegsgerade bildet die Grundlage für die Berechnung der Inulinserumkonzentrationen.

Geradengleichung:	y	=	b x + a	
(SPSS gewichtet 1/x <sup>2</sup> )	y	-	Extinktion	
	x	-	Inulinkonzentration [µg/ml]	
	b	-	Anstieg der Kalibrationskurve	
	a	-	Konstante der Kalibrationskurve	
Inutestkonzentration	x	=	( y - a ) / b	[µg/ml]

---

<sup>1</sup> Microsoft Excel, Version 2000

<sup>2</sup> SPSS 5.0, M. J. Norusis SPSS Inc., Chicago

#### 4.6.2. Analyse der Paraaminohippuratkonzentration im Serum

Die Bestimmung der p-Amino-Hippursäure (PAH) wird nach der Methode nach Bratton-Marshall (Bratton and Marshall, 1939) modifiziert und im Institut für Klinische Pharmakologie etabliert (SOP 971113).

##### Prinzip der analytischen Methode

Die p-Amino-Benzole reagieren mit Natriumnitrit in saurem Milieu in einer Überschussreaktion unter Bildung des entsprechenden Diazoniumsalzes. Durch die Zugabe von Amidoschwefelsäure wird das überschüssige Nitrosyl-Kation zerstört. Das Diazonium-Ion wird in der anschließenden Kopplungsreaktion mit N-(1-Naphtyl)-ethylendi-ammoniumdihydrochlorid (Reagenz nach Bratton-Marshall) zu einem stabilen Azofarbstoff gekoppelt.

Die Extinktion des gebildeten Farbstoffs, dessen Menge im untersuchten Konzentrationsbereich proportional der p-Amino-Hippursäure-Konzentration ist, wird bei einer Wellenlänge von 546 nm mit einem Photometer bestimmt.

Die Validierung der Methode ergibt bei Einsatz von Lösungen mit bekannten Konzentrationen eine durchschnittliche Wiederfindungsrate von 100% bei einer durchschnittlichen intra-assay-Schwankung von 8,54% und einer durchschnittlichen inter-assay-Schwankung von 10,58%.

Der Extinktionsverlauf ist im Messbereich von 0,125 µg/ml bis 4 µg/ml linear.

##### Reagenzien

Amminohippurat-Sodium® (Merck & Co, West Point, USA); Trichloressigsäure 10% (Merck, Darmstadt); wässrige Natriumnitritlösung 1.000 mg/1000 ml (Laborchemie, Apolda); wässrige Amidosulfonsäurelösung 5.000 mg/1000 ml (Serva, Heidelberg); wässrige N-(1-Naphtyl)-ethylendi-ammoniumhydrochlorid-Lösung = Bratton-Marshall Reagenz 5.000 mg/1000 ml (Serva, Heidelberg); Ethanol 96% (Merck, Darmstadt).

##### - Herstellung der PAH-Kalibrationskurve:

Für die Erstellung der Kalibrierkurve werden wässrige Lösungen mit einer Konzentration von 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 3,0 und 4,0 µg/ml hergestellt.

Die Kalibrierkurve wird parallel zu jeder PAH-Bestimmung bestimmt.

- Durchführung der PAH-Bestimmung:

Die PAH-Bestimmung in Serumproben ist erst nach Abtrennung der Serumproteine möglich. Hierzu werden 100 µl Serum mit 1 ml Trichloressigsäure 10% versetzt und 10 Minuten bei 10.900 U/min zentrifugiert. 0,4 ml des Überstands werden mit 0,2 ml Natriumnitritlösung versetzt und mit Hilfe des Vortexers gemischt. Die Lösung wird 4 Minuten bei Raumtemperatur belassen. Anschließend werden 0,2 ml Amidosulfonsäurelösung zugesetzt und diese gründlich auf dem Vortexer geschüttelt, dabei ist eine Gasbildung nachweisbar. Die Lösung wird 4 Minuten bei Raumtemperatur belassen und anschließend mit 0,2 ml Bratton-Reagenz als Kopplungsreagenz versetzt und gründlich gemischt. Nach 4 Minuten werden 0,5 ml Ethanol zugegeben und kurz gemischt.

Die Extinktion des gebildeten Azofarbstoffes wird nach 40 Minuten mit Hilfe des Photometers Spekol 11 (Carl Zeiss Jena) in Halbmikroküvetten bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen.

- Auswertung:

Grundlage der Berechnung der PAH-Konzentration aus dem Serum bildet die an dem jeweiligen Bestimmungstag mitgeführte gewichtete Kalibrationskurve.

$$\text{PAH-Konzentration} = ((y - a) / b) \times F \quad [\mu\text{g/ml}]$$

y	-	Extinktion der Serumprobe
b	-	Anstieg der Kalibrationskurve
a	-	Konstante der Kalibrationskurve
F	-	Korrekturfaktor

Berechnung des Korrekturfaktors:

Die Patientenproben werden zur Abtrennung der Serumproteine vorbehandelt und verdünnt. Der Verdünnungsfaktor ist bei der Berechnung der PAH-Konzentrationen im Serum zu berücksichtigen.

$$F = (\text{Serum [ml]} + \text{TCA [ml]}) / \text{Serum [ml]}$$

## 4.7. Clearanceberechnung

### 4.7.1. Inulinclearance

Inulin ist ein aus 30 Fruktosemolekülen aufgebautes Polyfruktosan aus Dahlienwurzeln mit einem Molekulargewicht von 5.200 Dalton.

Für die Messung der GFR erfüllt es nahezu alle Kriterien: freie Filtrierbarkeit, keine tubuläre Sekretion und Reabsorption, keine Metabolisierung, keine Speicherung, keine Proteinbindung, keine Toxizität und keine Wirkung auf die glomeruläre Filtrationsrate.

Die Aufnahme in den Kreislauf erfolgt durch intravenöse Bolusapplikation (Sturgeon et al., 1998).

Die Errechnung der Inulinclearance erfolgt mit Hilfe des TOPFIT<sup>3</sup>-Kinetikprogramms aus den Seruminulinkonzentrationen. Als Programmvoreinstellung wird eine lag-time von einer Minute gewählt.

Die früher angenommene schnelle und gleichmäßige Verteilung von Inulin in einem zentralen Kompartiment ist durch Untersuchungen von Hellerstein (Hellerstein et al., 1993) und Orlando (Orlando et al., 1998) widerlegt worden. Bei Patienten mit Aszites wird die Verteilung von Inulin in weitere Kompartimente nachgewiesen.

Swinkels vergleicht die Einkompartiment- und Zweikompartiment-Kurve mit dem Clearanceverlauf von Inulin. Die beste Berechnung der Inulinclearance aus den Serumkonzentrationen wird auf der Grundlage des Zweikompartimentmodells erreicht (Swinkels et al., 2000).

Der Verlauf der Inulinelimination wird annäherungsweise durch eine logarithmische Funktion charakterisiert. Die Approximierung der terminalen Elimination erfolgt gegen unendlich. Die area under the curve- (AUC) Berechnung erfolgt gegen unendlich. Die Konzentrationen (y) werden  $1/y^2$  gewichtet.

Die Inulinclearance wird in ml/min angegeben. Für die interindividuelle Vergleichbarkeit wird die Inulinclearance auf  $1,73 \text{ m}^2$  Körperoberfläche korrigiert.

Für Männer werden Normalwerte der Inulinclearance von 88-174 ml/min/ $1,73 \text{ m}^2$  und für Frauen von 87-147 ml/min/ $1,73 \text{ m}^2$  angegeben (Grabensee; 1998).

---

<sup>3</sup> TOPFIT Version 2.0, Gustav Fischer Verlag Jena-Stuttgart, 1993

Die Inulinclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus und Nierenfunktionseinschränkung kann aufgrund vielfältiger struktureller und funktioneller Veränderungen nicht mit Normalwerten verglichen werden (McElduff et al., 1997).

#### 4.7.2. PAH-Clearance

Paraaminohippurat (PAH) ist eine Säure, die glomerulär filtriert und aktiv tubulär sezerniert wird. Der größte Anteil der PAH-Clearance wird durch aktive Sekretion des proximalen Tubulussystems geleistet. In niedrigen Plasmakonzentrationen von 10 bis 20 ng/ml wird die Substanz zu etwa 90% während der ersten Nierenpassage eliminiert (Schnurr et al., 1980).

Die PAH-Clearance ist ein Maß für den renalen Plasmafluss (RPF).

PAH ist nicht toxisch und hat keinen Einfluss auf die glomeruläre Filtrationsrate oder die tubuläre Sekretionsrate (Girndt et al., 1974).

Die Messung der PAH-Clearance erfolgt durch intravenöse Bolusapplikation (Schnurr et al., 1980; Hirata-Dulas et al., 1994).

Die Berechnung der PAH-Clearance erfolgt mit Hilfe des TOPFIT<sup>4</sup>-Kinetikprogramms. Allen Berechnungen wird als lag-time eine Minute vorgegeben.

Die Eliminationskinetik von PAH wird nach Untersuchungen von Hirata-Dulas am ehesten durch das Zweikompartiment-Modell charakterisiert (Hirata-Dulas et al., 1994).

Die Approximierung der terminalen Elimination erfolgt gegen unendlich. Die AUC-Berechnung erfolgt gegen unendlich. Die PAH-Konzentrationen (y) werden  $1/y^2$  gewichtet.

Die PAH-Clearance wird in ml/min angegeben. Für die interindividuelle Vergleichbarkeit wird die PAH-Clearance auf  $1,73 \text{ m}^2$  Körperoberfläche korrigiert.

An Normalwerten werden für Männer  $675 (+/- 150) \text{ ml/min/1,73 m}^2$  und für Frauen  $595 (+/- 125) \text{ ml/min/1,73 m}^2$  angegeben (Hirata-Dulas et al., 1994).

Gegenüber der Inulinclearance bestehen wesentlich größere intra- und interindividuelle Schwankungen (Kuhlmann und Walb, 1994). Einflussfaktoren sind insbesondere Hydrationsgrad und Stress.

---

<sup>4</sup> TOPFIT Version 2.0, Gustav Fischer Verlag Jena-Stuttgart, 1993

#### 4.7.3. Kreatininclearance

Kreatinin ist eine physiologisch im Serum vorkommende Substanz aus dem Muskelenergiestoffwechsel. Die konstanten Serumkonzentrationen und die renale Ausscheidung eignen sich für die Bestimmung der Nierenfunktion.

Die Serumkonzentration von Kreatinin nimmt erst bei 50%igem Abfall der Nierenfunktion zu. Es besteht kein linearer Zusammenhang zwischen Nierenfunktion und Serumkreatininkonzentration.

Grundlage der Bestimmung der Kreatininclearance aus dem 24 Stunden Sammelurin ist das Ficksche Prinzip:

$$\text{Kreatininclearance} = \frac{[\text{Kreatinin}]_{\text{Urin}} \text{ (mg/dl)} \times \text{Urinvolumen (ml)} \times 1,73}{(\text{ml/min}/1,73 \text{ m}^2) \quad [\text{Kreatinin}]_{\text{Serum}} \text{ (mg/dl)} \times \text{Sammelzeit (min)} \times \text{Körperoberfläche (m}^2\text{)}}$$

Normwerte für die Kreatininclearance betragen beim Mann 80 bis 160 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und bei der Frau 75 bis 130 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Ab dem 40. Lebensjahr fällt die Kreatininclearance um ca. 8,5 ml/min pro 10 Jahre ab (Kuhlmann und Walb, 1994).

Fliser untersucht den Zusammenhang zwischen Kreatinin- und Inulinclearance beim älteren Patienten und kommt zu dem Ergebnis, dass die Berechnung der glomerulären Filtrationsrate mittels Cockcroft und Gault-Formel die wahre GFR gemessen mittels Inulinclearance unterschätzt (Fliser et al., 1999).

#### 4.8. Statistik

Die Daten werden mit Hilfe des SPSS-Statistikprogramms<sup>5</sup> ausgewertet. Für normal verteilte, verbundene Stichproben wird der T-Test, für nicht normal verteilte, verbundene Stichproben der Wilcoxon-Test sowie für nicht normal verteilte, unverbundene Stichproben der Mann-Whitney-U-Test angewendet.

Das Signifikanzniveau wird mit  $p \leq 0,05$  festgelegt.

---

<sup>5</sup> SPSS 5.0, M. J. Norusis SPSS Inc., Chicago, USA

## 5. Ergebnisse

### 5.1. Deskriptive Statistik

In die Studie werden 26 männliche und 6 weibliche Patienten eingeschlossen, welche alle Einschlusskriterien und keines der Ausschlusskriterien erfüllen (Abb. 4).



Abb. 4: Geschlechtsverteilung der Studienpopulation

Männliche und weibliche Patienten zeigen keine wesentlichen Unterschiede in der Altersverteilung (Abb. 5).

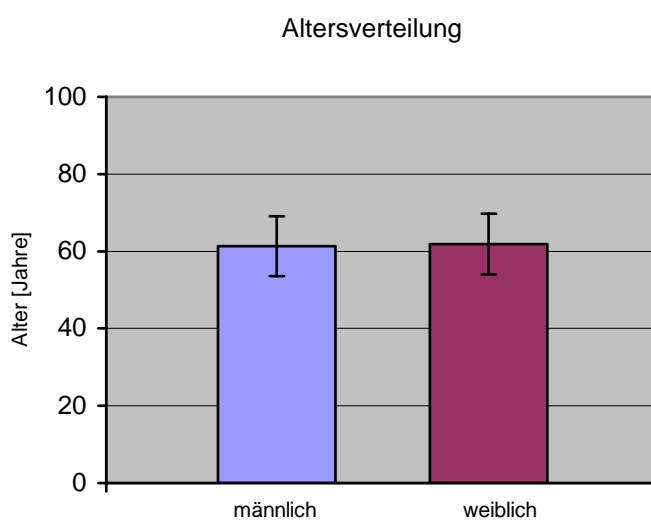


Abb. 5: Altersverteilung der Studienpopulation



Jeweils 16 Patienten werden nach Bestimmung der Kreatininclearance (Methode nach Cockroft und Gault) in die Gruppe I mit normaler sowie in die Gruppe II mit eingeschränkter Nierenfunktion zugeordnet.

In die Gruppe I werden 12 männliche und 4 weibliche Patienten mit einem mittleren Alter von 57,98 (+/- 7,95) Jahren und einer mittleren Kreatininclearance von 112,03 (+/- 35,57) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> eingeteilt (Tabelle 1).

Die mittlere Erkrankungsdauer an Diabetes mellitus Typ 2 betrug 12,7 (+/- 8,3) Jahre, der mittlere HbA1c-Wert wird mit 10,4 (+/- 1,87) % gemessen (Tabelle 1).

In die Gruppe II werden 12 männliche und 2 weibliche Patienten mit einem mittleren Alter von 64,89 (+/- 6,29) Jahren und einer mittleren Kreatininclearance von 58,35 (+/- 12,95) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> eingeteilt (Tabelle 1).

Die mittlere Diabetes mellitus-Erkrankungsdauer betrug 17,1 (+/- 6,8) Jahre, der mittlere HbA1c-Wert wird mit 8,9 (+/- 1,53) % gemessen (Tabelle 1).

		<b>Gruppe I</b> <b>(normale Nierenfunktion)</b> Mittelwert +/- Standardabweichung	<b>Gruppe II</b> <b>(eingeschränkte Nierenfunktion)</b> Mittelwert +/- Standardabweichung
Alter	[Jahre]	57,98 +/- 7,95	64,89 +/- 6,29
Diabetesdauer	[Jahre]	12,7 +/- 8,3	17,1 +/- 6,8
BMI	[kg/m <sup>2</sup> ]	31,2 +/- 5,1	29,7 +/- 3,4
HbA1c	[%]	10,4 +/- 1,87	8,9 +/- 1,53
systolischer RR	[mmHg]	153 +/- 24	147 +/- 14
diastolischer RR	[mmHg]	86 +/- 11	81 +/- 7
Kreatininclearance	[ml/min/1,73m <sup>2</sup> ]	112,03 +/- 35,57	58,35 +/- 12,95

Tabelle 1: deskriptive Patientendaten

## 5.2 Kreatininclearance

### 5.2.1. Vergleich zwischen Verum- und Placebophase in Gesamtgruppe

Die Kreatininclearance wird bei 32 Patienten in der Placebophase und bei 31 Patienten in der Verumphase jeweils am 3. Untersuchungstag aus dem 24-h-Sammelurin bestimmt.

Die mittlere Kreatininclearance beträgt in der Placebophase 76,51 (+/- 38,46) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 78,08 (+/- 45,97) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 6).

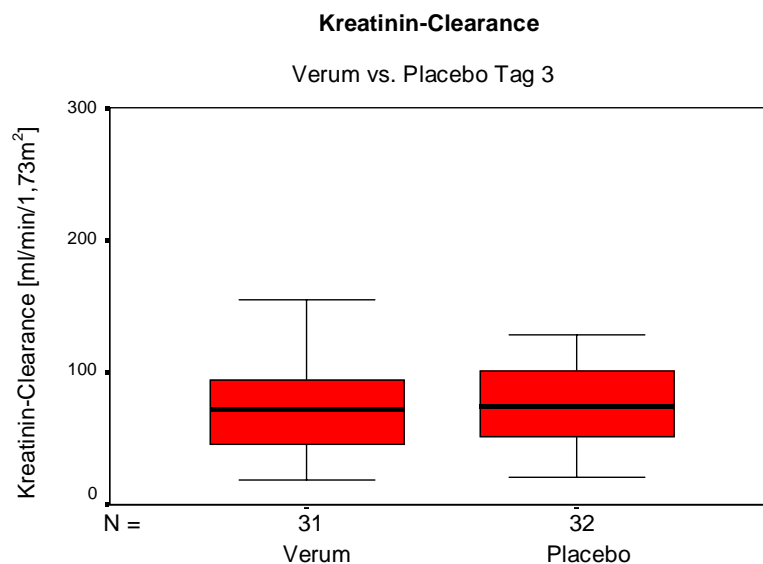


Abb. 6: Vergleich der Kreatininclearance zwischen Verum- und Placebophase

### 5.2.2. Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion

Die Kreatininclearance wird am 3. Untersuchungstag aus dem 24-h-Sammelurin bei 15 Patienten in der Placebophase und bei 16 Patienten in der Verumphase bestimmt.

Der Mittelwert der Kreatininclearance in der Placebophase beträgt 98,23 (+/- 38,5) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 103,44 (+/- 51,4) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 7).

Zwischen den Untersuchungsphasen ist kein signifikanter Unterschied messbar (p = 0,91).

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Einnahme von Diclofenac über 3 Tage keinen Einfluss auf die Kreatininclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und normaler Nierenfunktion hat.

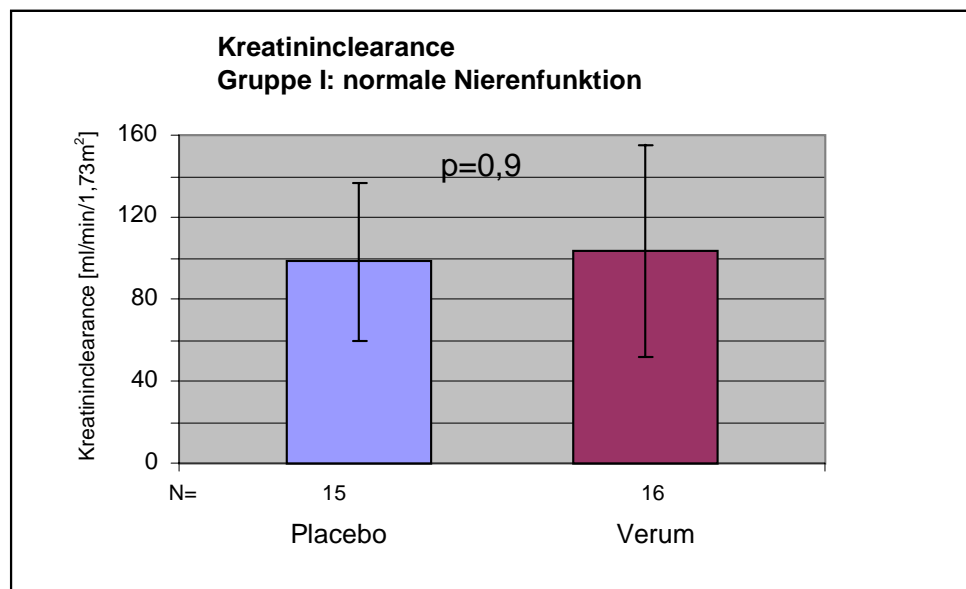


Abb. 7: Kreatininclearance der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion

### 5.2.3. Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion

Die Kreatininclearance wird am 3. Untersuchungstag aus dem 24-h-Sammelurin bei 16 Patienten in der Placebophase und bei 16 Patienten in der Verumphase bestimmt.

Der Mittelwert der Kreatininclearance in der Placebophase beträgt 54,79 (+/- 23,9) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 54,31 (+/- 22,6) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 8).

Zwischen den Untersuchungsphasen ist kein signifikanter Unterschied bestimmbar (p = 0,604).

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Einnahme von Diclofenac über 3 Tage keinen Einfluss auf die Kreatininclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und eingeschränkter Nierenfunktion hat.

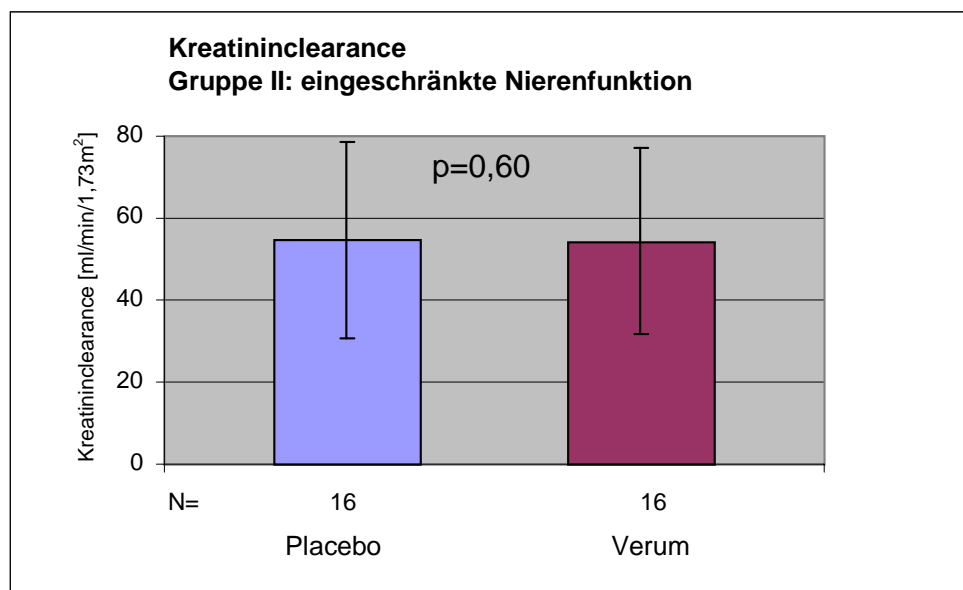


Abb. 8: Kreatininclearance der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion

#### 5.2.4. Vergleich der Patientengruppen

Die Kreatininclearancewerte zeigen zwischen den Patientengruppen mit normaler Nierenfunktion und der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion signifikante Unterschiede in der Placebo- ( $p = 0,001$ ) als auch in der Verumphase ( $p = 0,001$ ) (Abb. 9).

Der Vergleich der Messwertdifferenzen der Kreatininclearance von Placebo- und Verumphase ergibt keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,922$ ) zwischen der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion und der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion (Abb. 9).

Damit ist gezeigt, dass Diclofenac keinen Einfluss auf die Kreatininclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus und unterschiedlicher Nierenfunktion hat.

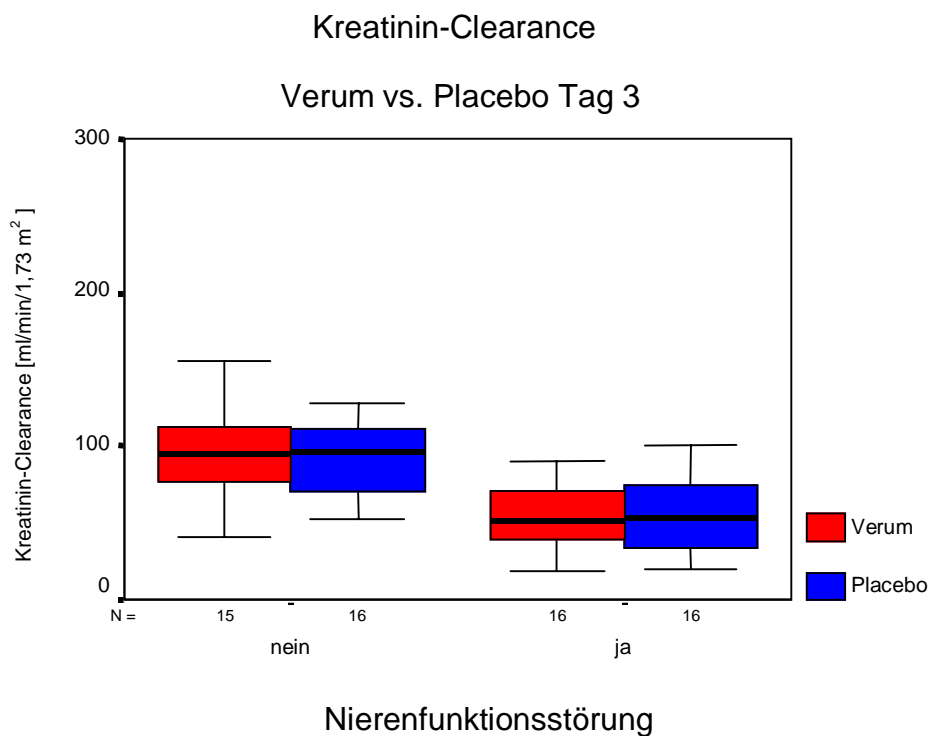


Abb. 9: Kreatininclearance der Untersuchungsgruppen in den einzelnen Untersuchungsphasen

### 5.3. Inulinclearance

#### 5.3.1. Vergleich von Verum- und Placebophase in Gesamtgruppe

Die Inulinclearance wird bei 31 Patienten in der Placebophase und bei 30 Patienten in der Verumphase bestimmt.

Die mittlere Inulinclearance wird in der Placebophase mit 113,62 (+/- 35,72) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase mit 113,73 (+/- 40,71) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> berechnet (Abb. 10).

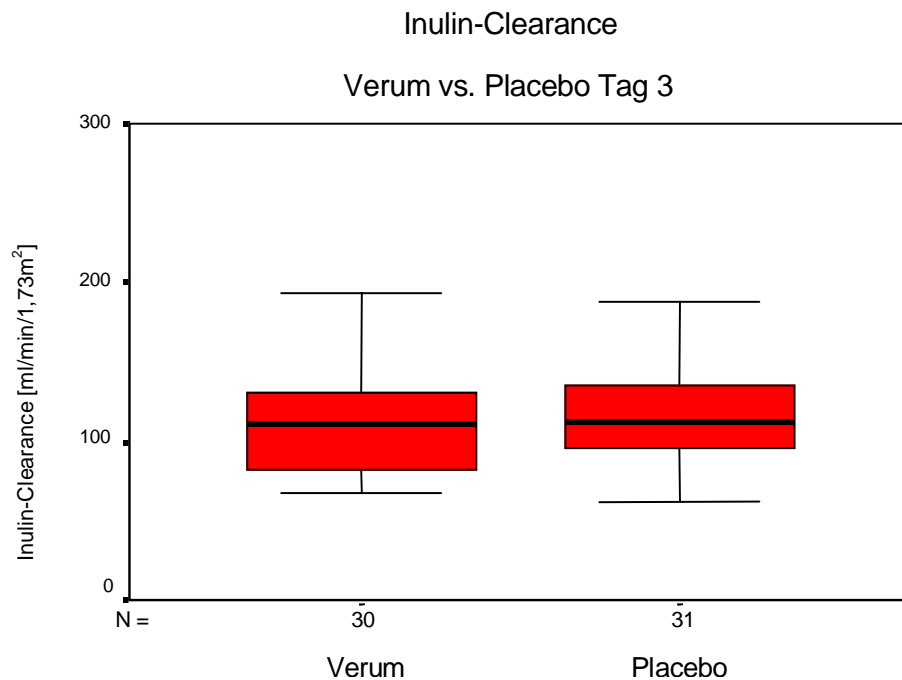


Abb. 10: Vergleich der Inulinclearance von Verum- und Placebophase

### 5.3.2. Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion

Die Inulinclearance wird bei 14 Patienten in der Verumphase und bei 15 Patienten in der Placebophase errechnet.

Aufgrund des hochgradig lipämischen Serums ist die Inulinbestimmung bei Patient 13 in keiner Phase möglich.

Der Mittelwert der Inulinclearance in der Placebophase beträgt 132,21 (+/- 25) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 126,28 (+/- 25,5) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 11).

Zwischen den Untersuchungsphasen ist kein signifikanter Unterschied vorhanden (p = 0,3).

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Einnahme von Diclofenac über 3 Tage keinen Einfluss auf die Inulinclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und normaler Nierenfunktion hat.

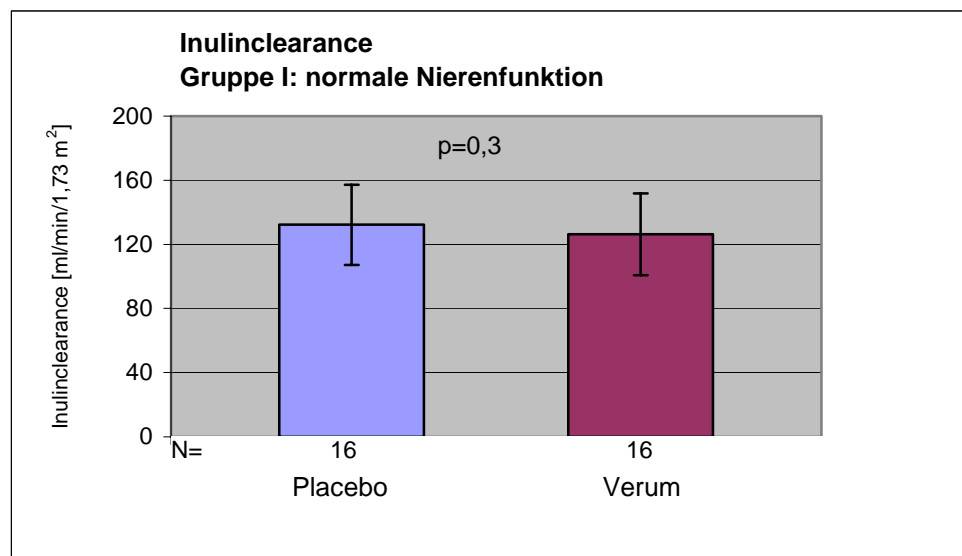


Abb. 11: Inulinclearance in der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion

### 5.3.3. Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion

Die Inulinclearance wird in beiden Phasen bei jeweils 16 Patienten bestimmt.

Der Mittelwert der Inulinclearance in der Placebophase beträgt 96,2 (+/- 36) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 102,76 (+/- 48,6) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 12).

Zwischen den Untersuchungsphasen ist kein signifikanter Unterschied vorhanden (p = 0,438).

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Einnahme von Diclofenac über 3 Tage keinen Einfluss auf die Nierenfunktion bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und eingeschränkter Nierenfunktion hat.

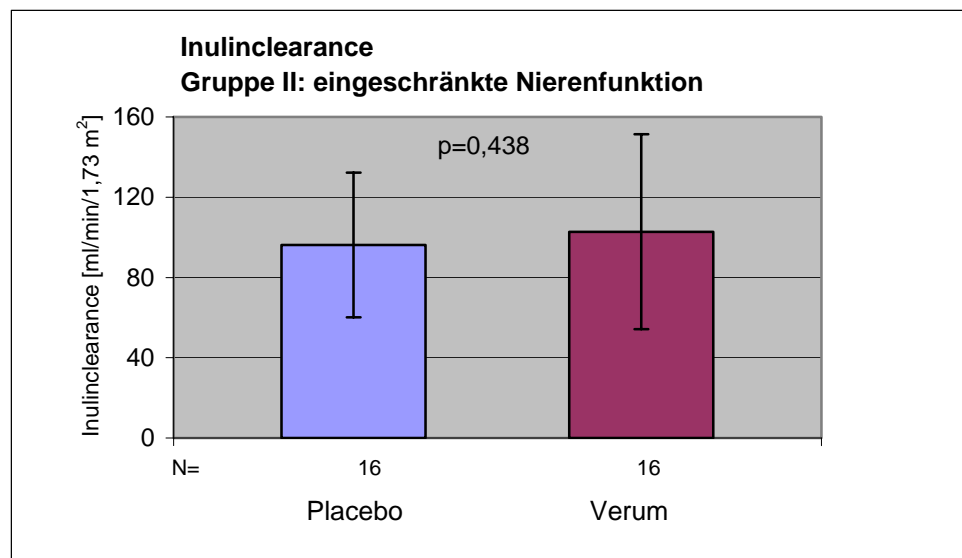


Abb. 12: Inulinclearance in der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion



#### 5.3.4. Vergleich der Patientengruppen

Die Inulinclearancewerte zeigen zwischen den Patientengruppen mit normaler Nierenfunktion und der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion signifikante Unterschiede in der Placebo- ( $p = 0,001$ ) als auch in der Verumphase ( $p = 0,008$ ) (Abb. 13).

Der Vergleich der Messwertdifferenzen der Inulinclearance von Placebo- und Verumphase ergibt keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,257$ ) zwischen der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion und der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion (Abb. 13).

Damit ist gezeigt, dass Diclofenac keinen Einfluss auf die Inulinclearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und unterschiedlicher Nierenfunktion hat.

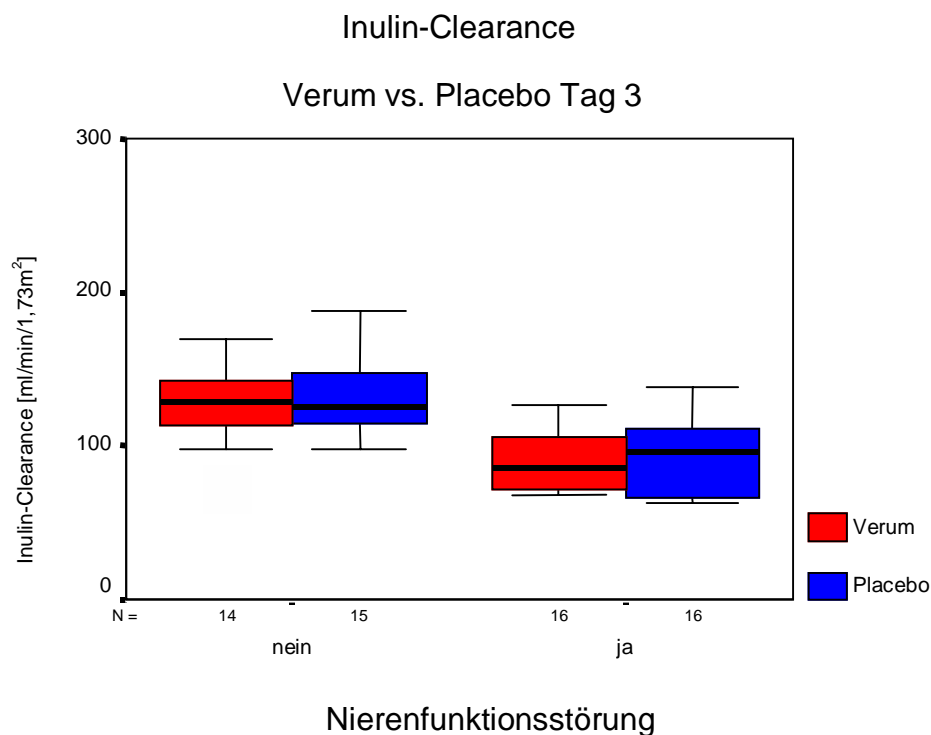


Abb. 13: Inulinclearance der Untersuchungsgruppen in den einzelnen Untersuchungsphasen

## 5.4. PAH-Clearance

### 5.4.1. Vergleich von Verum- und Placebophase in Gesamtgruppe

Die PAH-Clearance wird bei jeweils 30 Patienten in der Placebophase und in der Verumphase bestimmt.

Die mittlere PAH-Clearance wird in der Placebophase mit 267,69 (+/- 127,16) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase mit 269,09 (+/- 123,09) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> gemessen (Abb. 14).

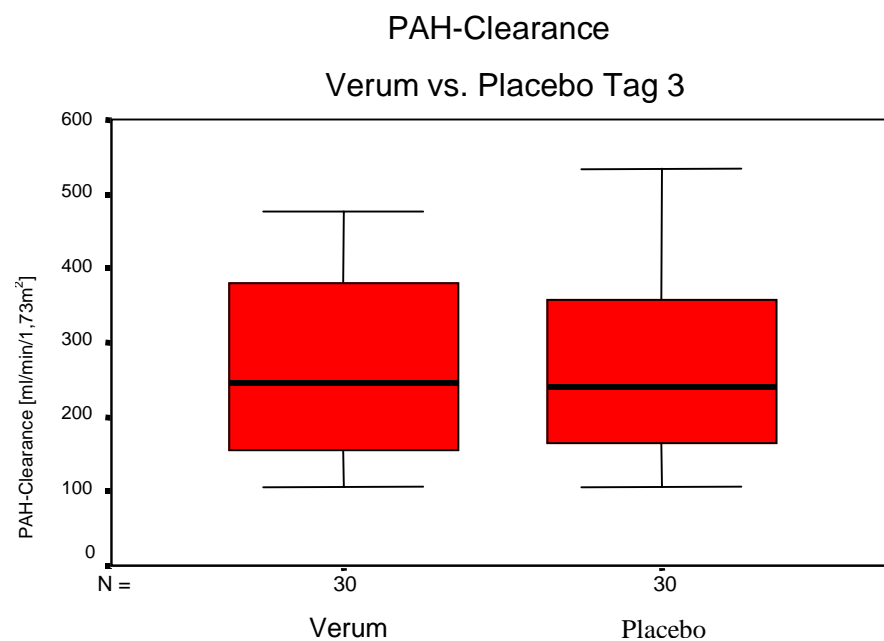


Abb. 14: Vergleich der PAH-Clearance von Verum- und Placebophase

#### 5.4.2. Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion

Die PAH-Clearance wird bei 14 Patienten in der Verumphase und bei 15 Patienten in der Placebophase bestimmt.

Aufgrund eines hochgradig lipämischen Serums ist die Bestimmung bei Patient 13 in keiner Phase der Untersuchung möglich.

Der Mittelwert der PAH-Clearance in der Placebophase beträgt 349,22 (+/- 124,99) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 364,99 (+/- 95,79) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 15).

Bei den Untersuchungsphasen ist kein signifikanter Unterschied messbar (p = 0,975).

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Einnahme von Diclofenac über 3 Tage keinen Einfluss auf die PAH-Clearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und normaler Nierenfunktion hat.

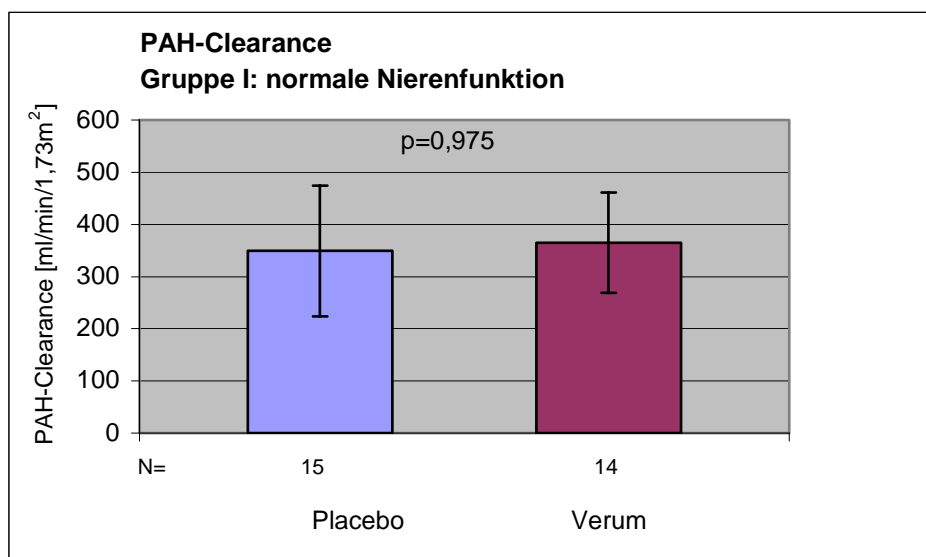


Abb.15: PAH-Clearance in der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion

#### 5.4.3. Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion

Die PAH-Clearance wird bei 15 Patienten in der Placebophase und bei 16 Patienten in der Verumphase bestimmt.

Der Mittelwert der PAH-Clearance beträgt in der Placebophase 186,16 (+/- 60,4) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> und in der Verumphase 186,67 (+/- 74,3) ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (Abb. 16).

Bei den Untersuchungsphasen ist kein signifikanter Unterschied vorhanden (p = 0,91).

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Einnahme von Diclofenac über 3 Tage keinen Einfluss auf die PAH-Clearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und eingeschränkter Nierenfunktion hat.

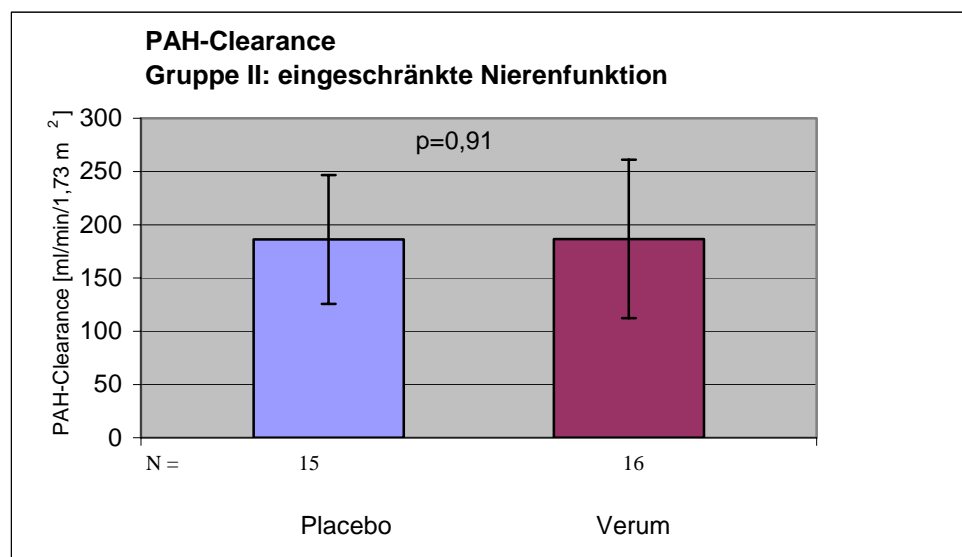


Abb. 16: PAH-Clearance in der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion

#### 5.4.4. Vergleich der Patientengruppen

Die PAH-Clearances zeigen zwischen den Patientengruppen mit eingeschränkter Nierenfunktion und der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion signifikante Unterschiede in der Placebo- ( $p = 0,001$ ) und in der Verumphase ( $p = 0,001$ ) (Abb. 17).

Der Vergleich der Messwertdifferenzen der PAH-Clearances von Placebo- und Verumphase ergibt keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,78$ ) zwischen der Patientengruppe mit normaler Nierenfunktion und der Patientengruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion (Abb. 17).

Damit ist gezeigt, dass Diclofenac keinen Einfluss auf die PAH-Clearance bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 und unterschiedlicher Nierenfunktion hat.

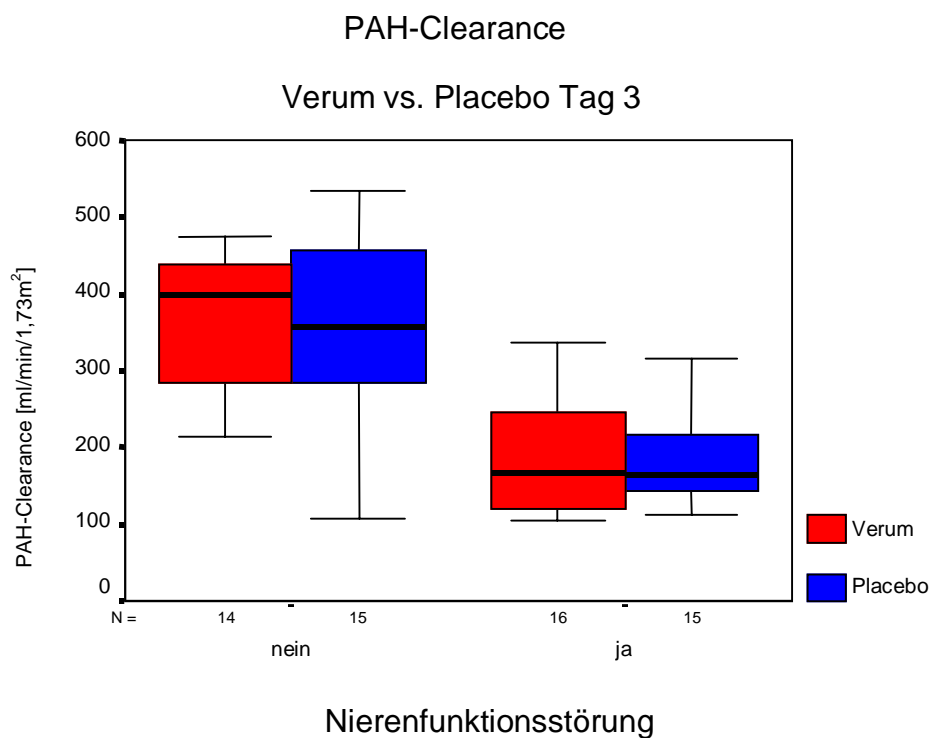


Abb. 17: PAH-Clearance der Untersuchungsgruppen in den einzelnen Untersuchungsphasen

## **6. Diskussion und Schlussfolgerungen**

NSAR können zu einer akuten und chronischen Verschlechterung der exkretorischen Nierenfunktion führen (Schlondorff, 1993; Carmichael and Shankel, 1985). Die „renale Toxizität“ der NSAR wird bei Gesunden als niedrig erachtet (Dunn, 1987), sie nimmt jedoch bei vorbestehender Nierenfunktionseinschränkung (Whelton et al., 1990) und Diabetes mellitus (Schlondorff, 1993; Griffin et al., 2000) zu.

Tierexperimentelle Daten lassen vermuten, dass die Aufrechterhaltung der Nierenfunktion bei Nierenfunktionseinschränkung unmittelbar von der Wirkung intrarenal synthetisierter Prostaglandine abhängt (Sanchez et al., 1999). Die Prostaglandin-vermittelte Ausschöpfung der glomerulären Filtrationsreserve ist auch bei Diabetes-assoziiierter Nierenfunktionseinschränkung intakt (Cooper, Gilbert and Epstein, 1998).

Ziel der vorliegenden Studie ist die Untersuchung des Einflusses von Diclofenac auf die Nierenfunktion bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion während einer kurzzeitigen Therapie über 3 Tage.

Die glomeruläre Filtrationsrate wird durch die Inulin- und Kreatininclearance gemessen. Die PAH-Clearancemessung erfasst den renalen Plasmafluss.

Zwischen den Untersuchungsgruppen bestehen signifikante Unterschiede in der Kreatinin-, Inulin- und PAH-Clearance.

Weder in der Untersuchungsgruppe mit normaler Nierenfunktion noch in der Gruppe mit eingeschränkter Nierenfunktion werden signifikante Änderungen in der Inulin-, PAH- oder Kreatininclearance unter dem Einfluss von Diclofenac gemessen.

Damit ist gezeigt, dass die kurzzeitige Diclofenaceinnahme in mittlerer therapeutischer Dosis keinen Einfluss auf die Nierenfunktion bei Patienten mit Diabetes mellitus mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion hat.

Die Ergebnisse dieser prospektiven Studie ergänzen damit Beobachtungen, wonach nicht-steroidale Antirheumatika die GFR und den RPF ganz unterschiedlich beeinflussen können.

Nur etwa 5 bis 18% der Patienten entwickeln unter NSAR-Einnahme eine Nierenfunktionsstörung (Murray et al., 1990), wobei für Indomethacin das höchste Risiko beschrieben ist. Diclofenac wird lediglich in die mittlere Risikogruppe eingeteilt (Brater, 1999).

Toxische Wirkungen auf Nierenzellen werden im Zusammenhang mit der NSAR-Einnahme beobachtet (Radford et al., 1996; Rocha et al., 2001; Hickey et al., 2001). Die dazu notwendigen Konzentrationen sind jedoch gegenüber den klinisch eingesetzten Dosen unvergleichlich hoch, so dass nur eine sehr lange und häufige Aufnahme großer NSAR-Mengen zu chronischen Nierenschädigungen führen kann (Rocha et al., 2001).

Seit Aufklärung der Wirkungsweise von NSAR durch Vane 1971 wird kontrovers diskutiert, inwieweit Prostaglandine für die Aufrechterhaltung der Nierenfunktion von Bedeutung sind und ob die Hemmung der Prostaglandinsynthese durch NSAR für Nierenfunktionsstörungen verantwortlich sind.

Allgemein ist bekannt, dass Prostaglandine als Zyklooxygenasesyntheseprodukte an der Regulation der kortikalen (Davis et al., 1996; Komhoff et al., 1997) und medullären Nierenperfusion (Hughes et al., 1995) sowie an der Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes durch die Niere (Harris et al., 1994; Fernandez-Llama et al., 1999) beteiligt sind. Der RPF und die GFR können durch die vasodilatatorische Wirkung der verschiedenen glomerulär synthetisierten Prostaglandine gesteigert werden (Purdy and Arendhorst 2000; Morath et al., 1999). Unter normalen Bedingungen modulieren Prostaglandine jedoch lediglich den Tonus der afferenten und efferenten Arteriole (Dunn, 1987). Schlondorff spricht von sogenannten Feinregulatoren (Schlondorff, 1993).

Neben den Prostaglandinen beeinflussen weitere autokrin und parakrin synthetisierte Faktoren (Angiotensin II, Histamin, Bradykinin, Nitritoxid, Thromboxan) die GFR und den RPF (Brenner and Humes, 1977; Dworkin et al., 1983). Zwischen dem Prostaglandinsystem und dem Renin-Angiotensin-System (Inman et al., 1994; Cruz and Escalante, 1999; Mann et al., 2001) sowie dem Nitritoxid-System (Carmines and Oshi, 1999; DeVriese et al., 2001) werden Interaktionen in der Regulierung der glomerulären Filtrationsrate und des renalen Plasmaflusses beschrieben.

Neuere Untersuchungen zeigen auch, dass Prostaglandine wesentlich an der Regulation des Renin-Angiotensin- (Wolf et al., 1999; Harris et al., 2000) sowie des Nitritoxidsystems (Kihara, 1997; Klein et al., 1998) beteiligt sind. Daraus ergibt sich, dass Prostaglandine innerhalb der intrarenalen Regulationsfaktoren eine zentrale Rolle einnehmen.

Interessante neue Aspekte der Wirkung von NSAR auf die Nierenfunktion ergeben sich mit Entdeckung der unterschiedlichen Zyklooxygenaseenzyme COX-1 und COX-2 (Hemler, 1976; Xie, 1991).

Tierexperimentell werden nach Verlust der COX-2-Synthesefähigkeit schwere Nephropathien beobachtet (Morham et al., 1995; Norwood et al., 2000). Dies unterstützt auch die oben genannte Feststellung, dass Prostaglandine eine zentrale Stellung für die Aufrechterhaltung der Nierenfunktion haben.

Für Diclofenac wird gezeigt, dass es sowohl COX-1 als auch COX-2 schon bei niedrigen Konzentrationen hemmt (Brideau et al., 1996). Zusätzlich wird die Wirkung von Diclofenac als relativ COX-2-selektiver Hemmer eingeschätzt (Cryer and Feldmann, 1998; FitzGerald, 2001). Somit greift Diclofenac direkt in die Regulation der GFR und des RPF durch die Hemmung der renalen Synthese vasodilatatorischer Prostaglandine ein. Die indirekte Wirkung auf die GFR und den RPF erfolgt durch die Beeinflussung der weiteren intrarenalen Regulationssysteme als Folge der zentralen Stellung des Prostaglandinsystems.

Analysiert man die Wirkung verschiedener NSAR auf die Nierenfunktion in den vorliegenden Studien, so bietet sich eine strukturierte Betrachtung nach Grad der Nierenfunktions-einschränkung an.

Bei Patienten mit normaler Nierenfunktion und ohne schwere Begleiterkrankungen führt lediglich die Einmalgabe des NSAR Indomethacin zu einer leichten Reduktion des RPF bei konstanter GFR (Toto et al., Anderson 1986). Für Ketoprofen werden demgegenüber keine Veränderungen der Nierenfunktionsparameter gemessen (Toto et al., 1986). Bei normaler Nierenfunktion hat die Gabe der NSAR Indomethacin oder Ketoprofen über mehrere Tage keine signifikante Änderung der GFR oder des RPF zur Folge (Toto et al., 1986). Lee berichtet in einer Metaanalyse über die signifikante Reduktion der Kreatininclearance während der intra- und postoperativen Therapie mit den NSAR Diclofenac, Ketorolac, Indomethacin oder Ibuprofen über 3 Tage (Lee, 1999).



Unsere Studie zeigt keine Veränderung der Kreatinin-, Inulin- oder PAH-Clearance unter dem Einfluss des NSAR Diclofenac und unterstützt damit die Beobachtung, dass offensichtlich Prostaglandine bei normaler Nierenfunktion keinen entscheidenden Einfluss auf die Regulation der GFR und RPF haben. Weiterhin deuten die Daten daraufhin, dass die Applikationsfrequenz der NSAR einen wichtigen Einfluss auf die Veränderung der GFR und den RPF haben kann. Zusätzlich zeigen die verschiedenen NSAR eine heterogene Wirkung in der Beeinflussung der GFR und des RPF (Cook et al., 1997).

Das Risiko ist erhöht, trotz normaler Nierenfunktion mit steigendem Lebensalter eine Nierenfunktionsstörung unter der Therapie mit NSAR zu entwickeln (Griffin et al., 2000). Deshalb wird postuliert, dass Prostaglandine mit Zunahme des Lebensalters eine zunehmende Bedeutung für die Aufrechterhaltung der Nierenfunktion erlangen (Murray and Brater, 1993).

Dafür spricht, dass mit ansteigendem Lebensalter eine gesteigerte Neigung zu Vasokonstriktion besteht. Prostaglandine können dieser Entwicklung durch ihre direkte vasodilatatorische Wirkung entgegenwirken (Ungar et al., 2000).

Die dynamische Zunahme der COX-2-Aktivität mit zunehmendem Lebensalter führt zu einer altersabhängigen Steigerung der renalen Prostaglandinsynthese (Nantel et al., 1999).

Bei älteren Patienten mit normaler Nierenfunktion führt die Einmalgabe von Ibuprofen, Piroxicam oder Sulindac zu einer Reduktion der Inulinclearance (Murray et al., 1995). Swan hat sowohl für das nicht-selektive NSAR Indomethacin als auch für den selektiven COX-2-Hemmer Rofecoxib signifikante Reduktionen der GFR nach Einmal- und Mehrfachgabe bei älteren Patienten gemessen (Swan et al., 2000). Demgegenüber hat die perioperative Diclofenacbolusgabe mit nachfolgender Dauerinfusion keine signifikante Reduktion der Inulin- oder PAH-Clearance bei älteren Patienten zur Folge (Fredman et al., 1999). Ebenfalls werden unter der kurzzeitigen Ibuprofentherapie bei gesunden älteren Frauen keine Veränderungen der GFR oder des RPF gemessen (Farquhar and Kenney, 1999). Die Langzeittherapie mit 75 mg Diclofenac über 12 Wochen führt jedoch zu einer signifikanten Reduktion der Kreatininclearance bei älteren Patienten (Vandenburg et al., 1984).

In unsere Studie sind ebenfalls ältere Patienten eingeschlossen. Die Studienergebnisse unterstützen die Beobachtungen von Fredman (Fredman et al., 1999), wonach Diclofenac keine Veränderungen der Nierenfunktion während einer kurzzeitigen Therapie bei älteren Patienten verursacht.

Durch Begleiterkrankungen kann es zu veränderten Synthese der intrarenalen Regulationsfaktoren kommen. Die Diabetes mellitus-Erkrankung ist mit einer Steigerung des lokalen Renin-Angiotensin-Systems assoziiert (Price et al., 1999; Cooper, 2001). Dadurch steigt der Anteil an intrarenalen Vasokonstriktoren. In diesem Zusammenhang wird eine Abhängigkeit der Nierenfunktion von Prostaglandinen vermutet (Murray and Brater, 1993).

Die experimentelle Steigerung des Renin-Angiotensin-Systems durch Proteinbelastung (Vanrenterghem et al., 1988; Farker et al., 1995) oder Salzrestriktion (Farker et al., 1995) geht mit einer Steigerung der intrarenalen Prostaglandinsynthese einher. Für weitere Erkrankungen mit gesteigertem Renin-Angiotensin-System z. B. mittel- bis schwergradige Herzinsuffizienz (Komhoff et al., 1999) oder Bartter like-Syndrom (Khan et al., 2001) können ebenfalls Steigerungen der Prostaglandinsynthese in der Niere gezeigt werden.

Farker hat nach Salzrestriktion und Proteinbelastung keine Veränderung der Inulin-, PAH- oder Kreatininclearance unter der mehrtägigen Diclofenaceinnahme bei gesunden Probanden gemessen (Farker et al., 1995). Das Design sowie die Medikation dieser Studie sind mit denen unserer Untersuchung vergleichbar. Daraus wird geschlossen, dass die Nierenfunktion von Patienten mit Diabetes mellitus mit normaler oder eingeschränkter Nierenfunktion nach kurzzeitiger Einnahme von Diclofenac sich ähnlich wie die Nierenfunktion von gesunden Probanden unter Salzrestriktion und Proteinbelastung verhält.

Ergänzend zu diesen Ergebnissen zeigt Rossat, dass lediglich eine hohe Einzeldosis des COX-2-selektiven Wirkstoffs Celecoxib zu einer Reduktion der Inulin- und PAH-Clearance führt. Nach Mehrfachgabe des Wirkstoffs über mehrere Tage werden keine Veränderungen im Vergleich zu den Ausgangswerten registriert (Rossat et al., 1999).

Bereits kurz nach Diabetesmanifestation wird eine Steigerung der GFR und des RPF gemessen (Mogensen et al., 1983). Die alleinige Blutzuckereinstellung führt nicht zu einer Regression der funktionellen glomerulären Veränderungen (Christensen et al., 2001). Daraus wird geschlossen, dass die permanente Blutzuckererhöhung zu Veränderungen vieler Regulationsfaktoren führen kann und dies mit einer Beeinflussung der GFR und des RPF vergesellschaftet ist.

In vitro-Untersuchungen an renokortikalen und renomedullären Zellen zeigen eine signifikante Steigerung der COX-2-Aktivität unter hyperglykämischen Bedingungen

(Ishibashi et al., 1999). Demgegenüber wird keine Veränderung der COX-1-Aktivität unter hyperglykämischen Bedingungen nachgewiesen (Fang et al., 1997).

Als Ursache der selektiven Steigerung einzelner Zykllooxygenaseenzyme unter hyperglykämischen Bedingungen wird eine Aktivitätszunahme der Aldose-Reduktase (Chang and Diamitriadis, 1991) als Schlüsselenzym des Polyolweges sowie eine gesteigerte Synthese des second messengers Diacylglycerol (DAG) mit konsekutiver Steigerung der Proteinkinase-C-Aktivität (Keogh et al., 1997; Kimura et al., 2001; Handeda et al., 2001) gezeigt. Mit der Proteinkinase-C-Aktivität korreliert die Phospholipase A2- und die COX-2-Aktivität (Zager et al., 1993; Lee et al., 2000).

In tierexperimentellen und klinischen Studien wird am Diabetes mellitus Typ 1-Modell (Hayashi et al., 1983) sowie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (Moel et al., 1987; Esmatjes et al., 1985; Craven and DeRubertis, 1989) eine Urinkonzentrationserhöhung verschiedener Prostaglandine bei konsekutiv gesteigerter GFR und RPF gemessen. Im Diabetes mellitus Typ 2-Modell (Okumura et al., 2000) sowie in klinischen Studien (Matthiesen et al., 1988; Gomez-Martino et al., 1994) werden diese Ergebnisse bestätigt.

Als Ursache für die Steigerung der GFR und des RPF wird eine diskontinuierliche Tonusveränderung der afferenten als auch der efferenten glomerulären Arteriole gemessen (Hostetter et al., 1981; Zatz et al., 1986; Craven and DeRubertis, 1989). Die gestiegene Filtrationsleistung wird als Folge der Ausschöpfung der glomerulären Filtrationsreserve interpretiert (Komers et al., 2000). Die permanenten Veränderungen werden als glomeruläre Hyperperfusion und Hyperfiltration bezeichnet (Bank, 1991).

Aus den oben genannten Daten wird geschlussfolgert, dass der chronische hyperglykämische Einfluss zu einem neuen Gleichgewicht der lokalen glomerulären Regulationsmediatoren führt. Prostaglandine sind möglicherweise an der Steigerung der glomerulären Filtrationsrate sowie der Steigerung des renalen Plasmaflusses beteiligt. Hierzu liegen unterschiedliche Studienergebnisse vor.

Bereits tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, dass die erhöhte GFR nach Diabetesinduktion durch Aspirin oder Indomethacin gesenkt wird (Moel et al., 1987; Craven et al., 1987). Der Widerstand der afferenten Arteriole nimmt unter NSAR stärker als der Tonus der efferenten Arteriole zu (Jensen et al., 1986).

Durch die Applikation eines COX-2-selektiven Hemmers wird tierexperimentell am Diabetes mellitus Typ 1-Modell eine moderate Senkung der GFR bei konstantem RPF beobachtet. Demgegenüber führt die Applikation eines COX 1-selektiven Hemmers zu keinen intra-renalen hämodynamischen Veränderungen (Komers et al., 2001).

Die orale Einmalapplikation von Indomethacin führt bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Hyperfiltration nicht zu einer Veränderung der GFR oder des RPF (Jenkins et al., 1989). Daraus wird geschlossen, dass renale Prostaglandine nicht der Hauptgrund für die Diabetes-induzierten Veränderungen der GFR und des RPF sind. Demgegenüber wird unter der ASS-Therapie bei Patienten mit kurzzeitig bestehendem Diabetes mellitus Typ-1 eine signifikante Reduktion der GFR und des RPF beobachtet (Esmatjes et al., 1985). Auch unter der Therapie mit NSAR bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ist eine Reduktion der GFR und des RPF zu beobachten. Diese Veränderungen sind unter Prostaglandinsubstitution reversibel (Umeda et al., 1995). Die mehrtägige Applikation des nicht selektiven NSAR Indomethacin bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 ohne Nierenfunktionseinschränkung hat keinen Einfluss auf die GFR oder den RPF (Christiansen et al., 1985).

Statistisch nimmt das Risiko, unter der Therapie mit NSAR bei vorbestehender Nierenfunktionseinschränkung eine akute Nierenfunktionsstörung zu entwickeln, um etwa 80% zu (Griffin et al., 2000). Ausgehend von der Wirkung der NSAR sollten Prostaglandine bei Nierenfunktionseinschränkung eine größere Bedeutung in der Aufrechterhaltung der Nierenfunktion haben. Hierzu liegen verschiedene klinische Studien vor.

Bei Patienten mit Nierenfunktionseinschränkung ( $GFR\ 30-59\ ml/min/1,73\ m^2$ ) wird nach Einmalapplikation von Indomethacin, Etodolac, Ketoprofen, Ibuprofen, Piroxicam, Sulindac oder Flurbiprofen eine signifikante Reduktion der GFR (Toto et al., 1986; Brater et al. 1986; Murray et al., 1992; Murray et al., 1995) und des RPF (Toto et al., 1986; Brater et al., 1986; Murray et al., 1995) gemessen. Dies ist mit einer signifikanten Reduktion der Urinprostaglandinausscheidung assoziiert (Toto et al., 1986).

Demgegenüber werden unter mehrtägiger Einnahme von Indomethacin, Ketoprofen, Etodolac oder Flurbiprofen keine Veränderungen der GFR oder des RPF beobachtet (Toto et al., 1986; Brater et al., 1986; Murray et al., 1992). Lediglich für Ketoprofen wird eine signifikante, jedoch nur leichtgradige Reduktion der GFR bei nicht signifikant verändertem RPF gemessen (Toto et al., 1986).

In einer Vergleichsstudie von Whelton wird für Ibuprofen bei einzelnen Patienten der Untersuchungsgruppe mit Nierenfunktionseinschränkung (GFR 30-59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) eine signifikante Nierenfunktionseinschränkung nachgewiesen (Whelton et al., 1990). Gegenteilige Schlussfolgerungen gab Murray für Ibuprofen bei Nierenfunktionseinschränkung (GFR 30-59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) an (Murray et al., 1995). Lediglich für die lang wirkenden NSAR Piroxicam und Sulindac wird nach chronischer Einnahme eine signifikante Reduktion der GFR nachgewiesen (Murray et al., 1995).

Whelton weist ausdrücklich darauf hin, dass das Verhalten der Nierenfunktion unter NSAR bei eingeschränkter Nierenfunktion individuell unterschiedlich ist. Einzelne seiner Patienten hätten unter unkontrollierten Bedingungen auch unter dem kurz wirkenden NSAR Ibuprofen ein Nierenversagen entwickelt (Whelton et al., 1990).

Das Verhalten der Nierenfunktionsparameter scheint unter NSAR-Wirkung unmittelbar vom Grad der Nierenfunktionseinschränkung abhängig zu sein. In einer Vergleichsstudie bei Patienten mit milder Nierenfunktionseinschränkung (GFR 60-89 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) wird keine Veränderung der GFR und des RPF nach repetitiver Gabe von Ibuprofen oder Indomethazin beobachtet (Whelton et al., 1995).

Die Diabeteserkrankung führt in 30-40% zu einer Nierenfunktionseinschränkung. Schambelan favorisiert die Erhöhung der glomerulären Perfusionsrate als Hauptursache für die Progression der Niereninsuffizienz (Schambelan et al., 1989). Die verstärkte Ablagerung unphysiologisch ultrafiltrierter Proteine im Mesangium, den Glomerulusschlingen sowie den Tubuluszellen führt zur konsekutiven Ausschüttung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, welche nachfolgend sowohl die Proliferation mesangialer Zellen als auch das Voranschreiten interstitieller Fibrosierungen induzieren. Histologisch sind arterioläre Hyalinisierung sowie eine erhöhte Anzahl sklerosierter Glomeruli als Ausdruck der fortgeschrittenen Nierenfunktionseinschränkung nachweisbar. Pathoanatomisch sind die strukturellen Veränderungen diskontinuierlich im Parenchym verteilt. Histologisches Vollbild ist die diabetische Glomerulopathie nach Kimmelstiel und Wilson (Kimmelstiel and Wilson, 1936; Cooper, Gilbert and Epstein, 1998).

Die Sklerosierung der Glomeruli führt zu einem fortschreitenden Nephronverlust. Die Steigerung der GFR und der RPF des Einzelglomerulums kann zu einer Kompensation des strukturellen Verlustes an funktionsfähigen Nephronen beitragen. Die Aufrechterhaltung der glomerulären Hyperperfusion und Hyperfiltration scheint bei eingeschränkter Nierenfunktion

von besonderer Bedeutung zu sein. In Mikropunktionsstudien wird gezeigt, dass die Diabetes-induzierten funktionellen Veränderungen mit Steigerung der GFR und Steigerung des RPF auch bei Entwicklung einer Niereninsuffizienz weiter bestehen (Bank et al., 1988). Die Einschränkung der Filtrationsreserve scheint ein Hinweis für die diabetische Nephropathie zu sein (Guizar et al., 2001).

Die Bedeutung der Hemmung der Prostaglandinsynthese bei Diabetes mellitus und Niereninsuffizienz ist nur unzureichend erforscht. Mathiesen untersucht die Wirkung von Indomethacin bei Patientinnen mit Diabetes mellitus Typ 1 und Mikroalbuminurie. Unter der dreitägigen Indomethacineinnahme sind keine signifikanten Veränderungen der glomerulären Filtrationsrate beobachtet worden (Mathiesen et al., 1988). Für eine 4-tägige Naproxengabe werden bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 und Mikroalbuminurie gleiche Ergebnisse gezeigt (Nilsen, 1991). In einer Studie von Toto werden Patienten mit Diabetes mellitus und eingeschränkter Nierenfunktion ( $GFR < 40 \text{ ml/min}$ ) untersucht. Hier werden lediglich nach Einmalapplikation eine signifikante Reduktionen der GFR und des RPF für die Wirkstoffe Indomethacin und Ketoprofen gemessen. Die mehrtägige Gabe hat keine Veränderungen der Nierenfunktionsparameter zur Folge (Toto et al., 1986).

Unsere Messergebnisse bestätigen damit die Beobachtungen von Mathiesen und Nilsen für Patienten mit Diabetes mellitus und beginnender Nierenfunktionseinschränkung sowie die Beobachtungen von Toto für Patienten mit Diabetes mellitus mit Niereninsuffizienz ( $GFR 30\text{--}59 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ).

Aufgrund der Abhängigkeit der NSAR-Wirkung von der Dosis und der Applikationsfrequenz werden aus den Schlussfolgerungen unserer Studie keine Aussagen zur Wirkung einer höheren Diclofenacdosis, einer längeren oder häufigeren Applikation getroffen.

Keine Aussagen werden zur Wirkung von Diclofenac bei höherem Grad der Nierenfunktionseinschränkung getroffen.

Aus den oben genannten Ausführungen ist für Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion eine strenge Indikationsstellung sowie regelmäßige Überwachung der Nierenfunktion unter der Diclofenactherapie notwendig.

## 7. Literaturverzeichnis

Abraham PA and Keane WF (1984) Glomerular and interstitial disease induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Nephrol.* 4(1):1-6

Appleby SB, Ristimaki A, Neilson K, Narko K and Hla T (1994) Structure of the human cyclooxygenase-2 gene. *J Biochem* 302:723-7

Bank N, Lahorra M, Aynedjian H and Schlondorff D (1988) Vasoregulatory hormones and the hyperfiltration of diabetes. *Am J Physiol* 254:F202-F209

Bank N (1991) Mechanism of diabetic hyperfiltration. *Kidney Int* 40:792-807

Bonventre J and Nemenhoff R (1991) Renal tubular arachidonic acid metabolism. *Kidney Int* 39:438-449

Botting RM (2000) Mechanism of action of acetaminophen: is there a cyclooxygenase 3? *Clin Infect Dis* 31 [Suppl] 5:S202-10

Brater DC, Anderson SA, Brown-Cartwright D and Toto RD (1986) Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on renal function in patients with renal insufficiency and cirrhotics. *Am J Kidney Dis* 8:351-355

Bratton AC and Marshall EK (1939) A new coupling component for sulfanilamide determination. *J Biol Chem* 128:537-550

Breyer MD, Davis L, Jacobson HR and Breyer RM (1996) Differential localization of prostaglandin e-receptor subtypes in human kidney. *Am J Physiol* 270:912-918

Brideau C, Kargman S, Liu S, Dallob AL, Ehrich EW, Rodger IW and Chan CC (1996) A human whole blood assay for clinical evaluation of biochemical efficacy of cyclooxygenase inhibitors. *Inflamm Res* 45:68-74

Brooks PM and Day RO (1991) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs-differences and similarities. *N Engl J Med* 324(24):1716-25

Brune K (1994) Analgetika-Antiphlogistika-Antirheumatika. In Estler CJ *Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie*. 4. Auflage. Schattauer-Verlag Stuttgart, New York

Brune K (1994) Spinal cord effects of antipyretic analgesics. *Drugs* 47 [Suppl. 5]:21-27

Brune K (1995) Optimierte Diclofenac-Therapie mit Hilfe galenischer Innovation. *Jahrbuch der Orthopädie*: 235-241

Carmichael J and Shankel SW (1985) Effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs on prostaglandins and renal function. *Am J Med.* 78(6 Pt 1):992-1000

Carmines PK and Ohishi K (1999) Renal arteriolar contractile response to angiotensin II in rats with poorly controlled diabetes mellitus. *Clin Exp Pharmacol* 26:877-882

Chang WP, Dimitriadis E, Allen T, Dunlop ME, Cooper M, Larkins RG (1991) The effect of aldose reductase inhibitors on glomerular prostaglandin production and urinary albumin excretion in experimental diabetes mellitus. *Diabetologia* 34(4):225-31

Cheng HF, Wang JL, Zhang MZ, Miyazaki Y, Ichikawa I, McKanna JA, Harris RC (1999) Angiotensin II attenuates renal cortical cyclooxygenase-2 expression. *J Clin Invest* 103(7): 953-61

Christensen P, Lund S and Parving HH (2001) The impact of glycaemic control on autoregulation of glomerular filtration rate in patients with non-insulin dependent diabetes. *Scand J Clin Lab Invest.* 61:43-50

Christiansen JS, Feldt-Rasmussen B and Parving HH (1985) Short-term inhibition of prostaglandin synthesis has no effect on the elevated glomerular filtration rate of early insulin-dependent diabetes. *Diabet Med* 2(1):17-20

Cockcroft DW and Gault MH (1976) Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 16:31-41



Cook ME, Wallin JD, Thakur VD, Kadowitz PJ, McNamara DB, Garcia MM, Lipani JA, and Poland M (1997) Comparative effects of nabumetone, sulindac, and ibuprofen on renal function. *J Rheumatol* 24(6):1137-44

Cooper M, Gilbert R and Epstein M (1998) Pathophysiology of diabetic nephropathy. *Metabolism* 12:3-6

Cooper M (2001) Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia* 44:1957-1972

Craven PA, Caines MA and DeRubertis FR (1987) Sequential alterations in glomerular prostaglandin and thromboxane synthesis in diabetic rats: relationship to the hyperfiltration of early diabetes. *Metabolism* 36(1):95-103

Craven PA and DeRubertis FR (1989) Role for local prostaglandin and thromboxane production in the regulation of glomerular filtration rate in the rat with streptozotocin-induced diabetes. *J. Lab. Clin. Med.* 113:74-81

Craven PA, Studer RK, Negrete H and DeRubertis FR (1995) Protein kinase C in diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications* 9(4):241-5

Cruz BV and Escalante B (1999) Renal vascular interaction of angiotensin II and prostaglandins in renovascular hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 34(1):21-7.

Cryer B and Feldman M (1998) Cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 selectivity of widely used nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Am J Med* 104(5):413-21.

De Vriese AS, Stoenoiu MS, Elger M, Devuyst O, Vanholder R, Kriz W and Lameire NH (2001) Diabetes-induced microvascular dysfunction in the hydronephrotic kidney: role of nitric oxide. *Kidney Int* 60(1):202-10

Diclofenac-Colestyramin (Voltaren-Resinat®), Fachinformation, Novartis Pharma GmbH Deutschland

Dunn M (1987) The role of arachidonic acid metabolites in renal homeostasis. *Non-steroidal*

anti-inflammatory drugs renal function and biochemical, histological and clinical effects and drug interactions. *Drugs* 33 Suppl 1:56-66

Esmatjes E, Fernandez MR, Halperin I, Camps J, Gaya J, Arroyo V, Rivera F and Figuerola D (1985) Renal hemodynamic abnormalities in patients with short term insulin-dependent diabetes mellitus: role of renal prostaglandins. *J Clin Endocrinol Metab* 60(6):1231-6

Fang C, Jiang Z and Tomlinson DR (1997) Expression of constitutive cyclo-oxygenase (COX-1) in rats with streptozotocin-induced diabetes; effects of treatment with evening primrose oil or an aldose reductase inhibitor on COX-1 mRNA levels. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 56(2):157-63

Farker K, Nassr N, Huck F, Zerle G, Rosenkranz B, Schmieder G and Hoffmann A (1995) Dipyrrone and diclofenac do not influence creatinine clearance, inulin-clearance or PAH-clearance in healthy male volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther* 33(3):125-30

Farker K, Merkel U, Schweer H, Haerting J, Madani SF, Eggers R, Muller UA, Seyberth HW and Hoffmann A (2002) Effects of short-term treatment with diclofenac-colestyramine on renal function and urinary prostanoid excretion in patients with type-2 diabetes. *Eur J Clin Pharmacol* 58(2):85-91

Farquhar WB and Kenney WL (1999) Age and renal prostaglandin inhibition during exercise and heat stress. *J Appl Physiol* 86(6):1936-43

Fernandez-Llama P, Ecelbarger CA, Ware JA, Andrews P, Lee AJ, Turner R, Nielsen S and Knepper MA (1999) Cyclooxygenase inhibitors increase Na-K-2Cl cotransporter abundance in thick ascending limb of Henle's loop. *Am J Physiol* 277(2 Pt 2):F219-26

Fliser D, Bischoff I, Hanses A, Block S, Joest M, Ritz E and Mutschler E (1999) Renal handling of drugs in the healthy elderly. Creatinine clearance underestimates renal function and pharmacokinetics remain virtually unchanged. *Eur J Clin Pharmacol* 55:205-11

Fredman B, Zohar E, Golan E, Tillinger M, Bernheim J and Jedeikin R (1999) Diclofenac does not decrease renal blood flow or glomerular filtration in elderly patients undergoing orthopedic surgery. *Anesth Analg* 88(1):149-54

Freston JW (1999) Rationalizing cyclooxygenase (COX) inhibition for maximal efficacy and minimal adverse events. *Am J Med* 107(6A):78S-88S

FitzGerald GA and Patrono C (2001) The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *N Engl J* 345:433-442.

Girndt J, Malysz M, Rumpf K, Neubaur J and Scheler F (1974) Metabolism of p-ammino-hippurate and its relevance in man. *Nephron* 13:138-144

Gomez-Martino JR, Miralles JM, De Leon B, Hernandez MT and Tabernero JM (1994) Urinary prostaglandins (PGE<sub>2</sub> and PGI<sub>2</sub>) in hyporeninaemic hypoaldosteronism in diabetic patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 9(3):251-6

Grabensee B (1998) Checkliste Nephrologie. Thieme Verlag Stuttgart, New York

Griffin MR, Yared A and Ray WA (2000) Nonsteroidal antiinflammatory drugs and acute renal failure in elderly persons. *Am J Epidemiol* 151:488-496

Guizar JM, Kornhauser C, Malacara JM, Amador N, Barrera JA and Esparza R (2001) Renal functional reserve in patients with recently diagnosed Type 2 diabetes mellitus with and without microalbuminuria. *Nephron* 87(3):223-30

Hasslacher C, Ritz E, Wahl P and Michael C (1989) Similar risks of nephropathy in patients with type I or type II diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 4:859-63

Harris RC, McKanna JA, Akai Y, Jacobson HR, Dubois RN and Breyer MD (1994) Cyclooxygenase-2 is associated with the macula densa of rat kidney and increases with salt restriction. *J Clin Invest* 94(6):2504-10

Harris RC, Cheng H, Wang J, Zhang M and McKanna JA (2000) Interactions of the renin-angiotensin system and neuronal nitric oxide synthase in regulation of cyclooxygenase-2 in the macula densa. *Acta Physiol Scand* 168(1):47-51

Hauner H (1998) Occurrence of diabetes mellitus in Germany. *Dtsch Med Wochenschr* 123:777-782

Hayashi M, Senba S, Saito I, Kitajima W and Saruta T (1983) Changes in blood pressure, urinary kallikrein, and urinary prostaglandin E2 in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 322(4):290-4

Hellerstein S, Berenbom M, Alon U and Warady B (1993) The renal clearance and infusion clearance of inulin are similar, but not identical. *Kidney Int* 44:1058-1061

Hemler M, Lands W and Smith WL (1976) Purification of the cyclooxygenase that forms prostaglandins. Demonstration of the two forms of iron in the holoenzyme. *J Biol Chem* 251:5575-5579

Heppelmann B, Pfeffer A, Schaible HG and Schmidt RF (1986) Effects of acetylsalicylic acid and indomethacin on single groups II and IV sensory units from acutely inflamed joints. *Pain* 26:337-351

Hickey EJ, Raje R, Reid V, Gross S and Ray S (2001) Diclofenac induced in vivo nephrotoxicity may involve oxidative stress-mediated massive genomic DNA fragmentation and apoptotic cell death. *Free Radic Biol Med* 31:139-152

Hirata-Dulas C, Awni W, Matzke G, Halstenson C and Guay D (1994) Evaluation of two single-bolus methods for measuring effective renal plasma flow. *Am J Kidney Dis* 23:374-381

Hostetter T, Troy J and Brenner B (1981) Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int* 19:410-415

Hostetter T, Olsen J, Rennke H, Venkatachalam M and Brenner B (1981) Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 241:F85-F93

Hughes AK, Barry WH and Kohan DE (1995) Identification of a contractile function for renal medullary interstitial cells. *J. Clin. Invest.* 96:411-416

Inman S, Porter J and Fleming J (1994) Reduced renal microvascular reactivity to angiotensin II in diabetic rats. *Microcirculation* 1:137-45

Ishibashi, R Ishibashi R, Tanaka I, Kotani M, Muro S, Goto M, Sugawara A, Mukoyama M, Sugimoto Y, Ichikawa A, Narumiya S and Nakao K (1999) Roles of prostaglandin E receptors in mesangial cells under high-glucose conditions. *Kidney Int* 56(2):589-600

Jenkins DA, Craig K, Collier A, Watson ML and Clarke BF (1989) Evidence against a role for prostaglandins in sustaining renal hyperfiltration in type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 6(6):502-5.

Jensen B, Schmidt C and Kurtz A (1996) Prostaglandins stimulate renin secretion and mRNA in mouse renal juxtaglomerular cells. *Am J Physiol* 269:F825-F830

Jonsson C and F Ericsson (1995) Impairment of renal function after treatment of a burn patient with diclofenac, a non-steroidal antiinflammatory drug. *Burns* 21:471-473

Keogh R, Dunlop M and Larkins R (1997) Effect of inhibition of aldose reductase on glucose flux, diacylglycerol formation, protein kinase C and phospholipase A2 activation. *Metabolism* 46:41-47

Khan KN, Stanfield K, Harris R and Baron D (2001) Expression of cyclooxygenase-2 in the macula densa of human kidney in hypertension, congestive heart failure and diabetic nephropathy. *Ren Failure* 23: 321-330

Kihara (1997) The neuronal isoform of constitutive nitric oxide synthetase is up-regulated in the macula densa of angiotensinogen gene-knockout mice. *Lab Invest* 76:285-294

Kimmelstiel P and Wilson C (1936) Intercapillary lesions in the glomeruli of the kidney. *Am J Pathology* 12:83-105

Kimura M, Ishizawa M, Miura A, Itaya S, Kanoh Y, Yasuda K, Uno Y, Morita H, Ishizuka and T. Related (2001) Platelet protein kinase C isoform content in type 2 diabetes complicated with retinopathy and nephropathy. *Platelets* 12(3):138-43

Kinn AC, Elbarouni J, Seideman P and Sollevi A (1989) The effect of diclofenac sodium on renal function. *Scand J Urol Nephrol.* 23(2):153-7

Klein T, Ullrich V, Pfeilschifter J and Nusing R (1998) On the induction of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase and soluble phospholipase A2 in rat mesangial cells by a nonsteroidal anti-inflammatory drug: the role of cyclic AMP. *Mol Pharmacol* 53(3):385-91

Komers R, Lindsley J, Oyama T, Allison K and Anderson S (2000) Role of neuronal nitric oxide synthase (NOS1) in the pathogenesis of renal hemodynamic changes in diabetes. *Am J Renal Physiol* 279:F573-F583

Komers R, Lindsley J, Oyama T, Schutzer W, Reed J, Mader S and Anderson S (2001) Immunohistochemical and functional correlations of renal cyclooxygenase-2 in experimental diabetes. *J Clin Invest* 107:889-898

Komhoff M, Grone HJ, Klein T, Seyberth HW and Nusing RM (1997) Localization of cyclooxygenase-1 and -2 in adult and fetal human kidney: implication for renal function. *Am J Physiol* 272:F460-468

Komhoff M, Seyberth HW, Nusing RM and Breyer M (1999) Cyclooxygenase-2-expression is associated with the macula densa in kidneys from patients with Bartter like syndrome. *JASN* 10: 437 A

Ku EC, Lee W, Kothari HV and Scholer DW (1986) Effect of diclofenac sodium on the arachidonic acid cascade. *Am J Med* 80:18-23

Kühnle HF, Dahl K, Ludwig C and Schmidt FH (1992) Fully enzymatic inulin determination in small volume samples without deproteinization. *J Nephron* 62:104-107

Kuhlmann U und Walb D (1994) *Nephrologie*. 2. Aufl., Thieme Verlag Stuttgart, New York.

Killing PE, Beckman EA, Scabies AS and Beckman EA (1995) Renal impairment after acute diclofenac, naproxen, and sulindac overdoses. *J Toxicol Clin Toxicol.* 33(2):173-7

Kurowski M, Menninger H and Paul E (1994) The efficacy and relative bioavailability of diclofenac resinate in rheumatoid arthritis patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 32(8):433-440

Lee A, Cooper MG, Craig JC, Knight JF and Keneally JP (1999) The effects of nonsteroidal

anti-inflammatory drugs (NSAIDs) on postoperative renal function: a meta-analysis. *Anaesth. Intensive Care* 27:574-580

Lee S, Woo H, Baik E and Moon C (2000) High glucose enhances IL-1 beta-induced cyclooxygenase-2 expression in rat vascular smooth muscle cells. *Life Science* 68:57-67

Löffler G und Petrides E (1988) *Physiologische Chemie*. 4 Auflage Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York.

Mann B, Hartner A, Jensen BL, Hilgers KF, Hocheil K, Kramer BK and Kurtz A (2001) Acute upregulation of COX-2 by renal artery stenosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 280(1):F119-25

Mathiesen ER, Hommel E, Olsen UB and Parving HV (1988) Elevated urinary prostaglandin excretion and the effect of indomethacin on renal function in incipient diabetic nephropathy. *Diabetic Medicine* 5:145-149

McGiff JC and Quilley J (1999) 20-HETE and the kidney: resolutions of old problems and new beginnings. *Am J Physiol* 277(3 Pt 2):R607-623

McElduff A, Shuter B, Cooper R, Davies L, Fulcher G, Hoschl R and Wilmshurst E (1997) Measuring renal function in patients with diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 11(4):225-9

Moel DI, Safirstein RL, McEvoy RC and Hsueh W (1987) Effect of aspirin on experimental diabetic nephropathy. *J Lab Clin Med* 110 :300-307

Mogensen CE, Christensen CK and Vittinghus E (1983) The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes* 32:64-78

Morath R, Klein T, Seyberth HW and Nusing RM (1999) Immunolocalization of the four prostaglandin E2 receptor proteins EP1, EP2, EP3 and EP4 in human kidney. *J Am Soc Nephrol* 10: 1851-60

Morham SG, Langenbach R, Loftin CD, Tiano HF, Vouloumanos N, Jennette JC, Mahler JF,

Kluckman KD, Ledford A and Lee CA (1995) Prostaglandin-synthase 2 gene disruption causes severe renal pathology in the mouse. *Cell* 83(3):473-82

Murray M, Greene P, Brater D, Manatunga A and Hall S (1992) Effects of flurbiprofen on renal function in patients with moderate renal insufficiency. *Br J Clin Pharmacology* 33:385-393

Murray M and Brater D (1993) Renal toxicity of the nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 32:435-465

Murray MD, Black PK, Kuzmik DD, Haag KM, Manatunga AK, Mullin MA, Hall SD and Brater DC (1995) Acute and chronic effects of nonsteroidal anti-inflammatory drugs on glomerular filtration rate in elderly patients. *Am J Med Sci* 310(5):188-97

Myllykangas-Luosujärvi R, Aho K and Isomaki H (1995) Death attributed in a nationwide series of 1666 patients with rheumatoid arthritis who have died. *J Rheumatol* 22:2214-2217

Nantel F, Meadows E, Denis D, Connolly B, Metters KM and Giaid A (1999) Immunolocalization of cyclooxygenase-2 in the macula densa of human elderly. *FEBS Lett* 457(3):475-7.

Nilsen L, Djøsland O, Rootwelt K and Berg J (1991) Effects of short-term-treatment with naproxen on kidney function in insulin dependent diabetic patients with microalbuminuria. *Scand J Lab Invest* 51:591-597

Norwood V, Morham S and Smithies O (2000) Postnatal development and progression of renal dysplasia in cyclooxygenase-2 null mice. *Kidney Int* 58:2291-2300

Okumura M, Imanishi M, Yamashita T, Yamamura Y, Kim S, Iwao H, Tanaka S and Fujii S (2000) Renal production of thromboxane and prostaglandins in a rat model of type 2 diabetes. *Life Sci* 66(5):371-7

Oliver JA, RR Sciacca, J Pinto and JA Cannon (1981) Participation of prostaglandins in the control of renal blood flow during acute reduction of cardiac output in the dog. *J Clin Invest* 67:229-237



O'Neill GP and Hutchinson AW (1993) Expression of mRNA for cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in human tissues. *FEBS Lett.* 330:156-160

Orlando R, Floreali M, Padrini R and Palatini P (1998) Determination of inulin clearance by bolus intravenous injection in healthy subjects and ascitic patients: equivalence of systemic and renal clearances as glomerular filtration markers. *Br J Clin Pharmacol* 46:605-609

Palitzsch KD, Nusser J, Arndt H, Enger I, Zietz B, Hügl S, Cuk A, Schäffler A, Büttner R, Frick E, Rath H, Schölmerich J und die Diabetomobil-Studiengruppe (1999). Die Prävalenz des Diabetes mellitus wird in Deutschland deutlich unterschätzt – eine bundesweite epidemiologische Studie auf der Basis einer HbA 1c-Analyse. *Diab Stoffw* 8: 189–200

Pichette V, Querin S, Desmeules M, Ethier J and Copleston P (1993) Renal function recovery in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis* 22(3):398-402

Price DA, Porter LE, Gordon M, Fisher ND, De'Oliveira JM, Laffel LM, Passan DR, Williams GH and Hollenberg NK (1999) The paradox of the low-renin state in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 10(11):2382-91

Purdy KE and Arendhorst WJ (2000) EP(1) and EP(4) receptors mediate prostaglandin E(2) actions in the microcirculation of rat kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 279:F755-F764

Revai T and Harnos G (1999) Nephrotic syndrome and acute interstitial nephritis associated with the use of diclofenac. *Wien Klin Wochenschr* 111(13):523-4

Ritz E, Rychlik I, Locatelli F and Halimi S (1999) End-Stage Renal Failure in Type 2 Diabetes: A Medical Catastrophe of Worldwide Dimensions. *Am J Kidney Dis* 34(5):795-808

Rossat J, Mailard M, Nussberger J, Brunner HR and Burnier M (1999) Renal effects of selective cyclooxygenase-2 inhibition in normotensive salt-depleted subjects. *Clin Pharmacol Ther* 66:76-84

Rossi E, Ferraccioli GF, Cavalieri F, Menta R, Dall'Aglio PP and Magone L (1985) Diclofenac-associated acute renal failure. Report of 2 cases. *Nephron* 40:491-3

- Sanchez P, L Salgado, N Ferreri and B Escalante (1999) Effect of cyclooxygenase-2-Inhibition on renal function after renal ablation. *Hypertension* 344:848-853
- Sarre H, Gessler U and Seybold D (1988) *Nierenkrankheiten*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- Schambelan M, Don BR, Kaysen GA and Blake S (1989) Abnormalities of glomerular eicosanoid metabolism in states of glomerular hyperfiltration. *Adv Exp Med Biol* 259: 275-304
- Schlondorff D (1993) Renal complications of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Kidney International* 44:643-653
- Schnurr E, Lahme W and Kuppers H (1980) Measurement of renal clearance of inulin and PAH in the steady state without urine collection. *Clin Nephrology* 13:26-29
- Schwabe U und Paffrath D (2001) *Arzneimittelreport 2001*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, S. 238-242
- Schwarz A, Preuschof L and Zellner D (1999) Incidence of analgesic nephropathy in Berlin since 1983. *Nephrol Dial Transplant* 14(1):109-12
- Shohaib S (2000) Injection of diclofenac precipitating oliguric acute renal failure in a patient with kidney myeloma. *Nephron* 85(1):96
- Singh G (1998) Recent considerations in nonsteroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Am J Med* 105 (Suppl):31S-38S
- Spühler O und Zollinger HU (1953) Die chronisch-interstitielle Nephritis. *Z klin Med* 151:1
- Standl E (1998) *Deutsches Ärzteblatt* 95, 34-35: A-2006
- Stichtenoth DO (1997) Classification of COX-1 and COX-2-inhibitors. *Eur J Clin Pharmacology* 52 (Suppl):A110

Stichtenoth DO and Frölich J (1998) Avoidance of renal side effects of NSAIDs: Value of selective COX-2. In: Vane J.R., Botting R.M., eds. Clinical significance and potential of selective COX-2 inhibitors. William Harvey, London: 99-108

Sturgeon C, Il A and Law W (1998) Rapid determination of glomerular filtration rate by single-bolus inulin: a comparison of estimation analysis. *Jap Physiol.*6:2154-2162

Swan SK, Rudy DW, Lasseter KC, Ryan CF, Buechel KL, Lambrecht LJ, Pinto MB, Dilzer SC, Obrda O, Sundblad KJ, Gumbs CP, Ebel DL, Quan H, Larson PJ, Schwartz JI, Musliner TA, Gertz BJ, Brater DC and Yao SL. (2000) Effect of cyclooxygenase-2 inhibition on renal function in elderly persons receiving a low-salt diet. A randomized, controlled trial. *Ann Intern Med.* 133(1):1-9

Swinkels DW, Hendriks JC, Nauta J and de Jong MC (2000) Glomerular filtration rate by single-injection inulin clearance: definition of a workable protocol for children. *Ann Clin Biochem* 37: 60-66

Tabata K, Yamaoka K, Fukuyama T and Nakagawa T (1995) Evaluation of intestinal absorption into the portal system in enterohepatic circulation by measuring the difference in portal-venous concentrations of diclofenac. *Pharm Res* 12(6):880-883

Tang L, Loutzenhiser K and Loutzenhiser R (2000) Biphasic actions of prostaglandin E(2) on the renal afferent arteriole: role of EP(3) and EP(4) receptors. *Circ Res* 86:663-670

Tegeder I, Neupert W, Guhring H and Geisslinger G (2000) Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostanoid release from various rat organs. *J Pharmacol Exp Ther* 292:1161-1168

Toto RD, Anderson A, Cartwright D, Kokko J and Brater D (1986) Effects of acute and chronic dosing of NSAIDs in patients with renal insufficiency. *Kidney Int* 30:760-768

Umeda F, Kuroki T and Nawata H (1995) Prostaglandins and diabetic nephropathy. *Diabetes and its Complications* 4: 334-336

Ungar A, Castellani S, Di Serio C, Cantini C, Cristofari C, Vallotti B, La Cava G and Masotti

G (2000) Changes in renal autacoids and hemodynamics associated with aging and isolated systolic hypertension. *Prostaglandins Other Lipid Mediat* 62(2):117-33

Vandenburg M, Currie W, Mann S and Diggins G (1984) Differential effects of two nonsteroidal antiinflammatory drugs on the plasma urea of elderly patients with osteoarthritis. *Br J Med Practice* 11:403-406

Vane JR (1971) Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol* 231(25):232-5

Vane JR and Botting RM (1995) New insights into the mode of action of anti-inflammatory drugs. *Inflamm Res* 44:1-10

Vanrenterghem YF, Verberckmoes RK, Roels LM and Michielsens PJ (1988) Role of prostaglandins in protein-induced glomerular hyperfiltration in normal humans. *Am J Physiol* 254(4 Pt 2):F463-9

Vriesendorp R, de Zeeuw D, de Jong PE, Donker AJ, Pratt JJ and van der Hem GK (1986) Reduction of urinary protein and prostaglandin E2 excretion in the nephrotic syndrome by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Clin Nephrol* 25(2):105-10

Whelton A, Stout RL, Spilman PS and Klassen DK (1990) Renal effects of ibuprofen, piroxicam, and sulindac in patients with asymptomatic renal failure. A prospective, randomized, crossover comparison. *Ann Intern Med* 112(8):568-76

Whelton A and Hamilton CW (1991) Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: effects on kidney function. *J Clin Pharmacol* 31(7):588-98

Whelton A, Scott H and Stout RL (1995) Effects of Misoprostol on nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced renal insufficiency in patients with stable chronic renal failure: a double-blind, crossover study. *Am J Ther* 2(11):858-863

Whelton A, Schulman G, Wallemark C, Drower E, Isakson P, Verburgn K and Geis G (2000) Effects of celecoxib and naproxen on renal function in the elderly. *Arch Intern Med* 22: 1465-1470

Whorton AR, Smigel M, Oates JA and Frolich JC (1978) Regional differences in prostacyclin formation by the kidney. Prostacyclin is a major prostaglandin of renal cortex. *Biochem Biophys Acta* 529:176-180

Wolf K, Castrop H, Hartner A, Goppelt-Strube M, Hilgers K and Kurtz A (1999) Inhibition of the renin-angiotensin system upregulates cyclooxygenase-2 expression in the macula densa. *Hypertension* 34:503-507

Xie W, Chipman JG, Robertson DL, Erikson RL and Simons DL (1991) Expression of a mitogen-responsive gene encoding prostaglandin synthase is regulated by mRNA splicing. *Proc Natl Acad Sci* 88:2692-6

Zager PG, Dorin RI, Shah VO, Kaplan DL, Mann PL, Frey HJ and Kellner T. (1993) Aldose reductase expression and prostaglandin E2 production are coordinately regulated in cultured rat mesangial cells. *Metabolism* 42(3):269-76

Zatz R, Dunn B, Meyer T, Anderson S, Rennke H and Brenner B (1986) Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-1930

## 8. Anhang

### Lebenslauf

Name:	Eggers
Vorname:	Ralf Michael
Geburtsdatum:	27.07.1974
Geburtsort:	Rudolstadt
1981-1990	Besuch der Polytechnischen Oberschule in Bad Blankenburg
1990-1993	Besuch des Gymnasiums in Bad Blankenburg
1993	Abitur
1993-1994	Zivildienst an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
1994-2001	Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena
2001	Staatsexamen, Friedrich Schiller Universität Jena
2001-2002	Arzt im Praktikum, Klinik für Innere Medizin, Sophien- und Hufeland Klinikum Weimar
Seit 2003	Assistenzarzt, Klinik für Innere Medizin, Sophien- und Hufeland Klinikum Weimar

Erfurt, 10.06.2003

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass

mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Frau Dr. med. K. Farker

Frau Dr. rer. nat. U. Merkel

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für die Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Erfurt, den 10.06.2003

## **Danksagung**

Für die Überlassung des Themas sowie die freundliche Unterstützung danke ich der Direktorin des Instituts für Klinische Pharmakologie der FSU Jena, Frau Professor Dr. med. habil. A. Hoffmann, herzlich.

Für die Unterstützung während des klinischen Teils und der während der Anfertigung der Dissertationsschrift häufigen fruchtbaren Diskussionen, der jederzeitigen Hilfe, der Geduld und den fachkundigen Ratschlägen danke ich besonders herzlich Frau Dr. med. K. Farker.

Für ihre Hilfe während der analytischen Laborarbeiten danke ich besonders Frau Dr. rer. nat. U. Merkel.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. habil. U. A. Müller und Herrn Dr. med. S. F. Madani für die Unterstützung bei der Rekrutierung der Patienten.

Weiterhin danke ich den Mitarbeiterinnen des Instituts für Klinische Pharmakologie für die Unterstützung während der Laborarbeit.